

Título del proyecto: Nuevas tendencias en la investigación de la obesidad y el riesgo del desarrollo de diabetes tipo 2 en adultos jóvenes de la UAM Cuajimalpa: Rol emergente de la microbiota intestinal y la señalización celular mediada por los exosomas

Línea de investigación del Cuerpo Académico o Grupo de Investigación, o de Posgrado.

1. Fisiología Celular y Tisular
2. Fisicoquímica e Interacciones de Biomoléculas
3. Biosistemas en Medio Ambiente y Energía

1.3 Responsable y participantes del proyecto

Responsable

Dra. Elena Aréchaga Ocampo

Profesora Titular de Tiempo Completo

Departamento de Ciencias Naturales

División de Ciencias Naturales e Ingeniería

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa

Participantes

UAM Unidad Cuajimalpa

Dr. Diego A. Esquivel Hernández

Profesor Titular de Tiempo Completo

Departamento de Procesos y Tecnología

División de Ciencias Naturales e Ingeniería

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa

Dra. Izlia Jazheel Arroyo Maya

Profesora Titular de Tiempo Completo

Departamento de Procesos y Tecnología

División de Ciencias Naturales e Ingeniería

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa

M en IQ. Miguel Sergio Hernández Jiménez

Técnico Académico Titular E

Departamento de Procesos y Tecnología

División de Ciencias Naturales e Ingeniería

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa

Dra. Teresa de Jesús García Pérez

Profesora Curricular

Departamento de Procesos y Tecnología

División de Ciencias Naturales e Ingeniería

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa

Dra. María de los Dolores Reyes Duarte

Profesora Titular de Tiempo Completo

Departamento de Procesos y Tecnología

División de Ciencias Naturales e Ingeniería

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa

Dr. Isidro X. Pérez Añorve

Profesor Curricular

Departamento de Ciencias Naturales

División de Ciencias Naturales e Ingeniería

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa

Lic en Nutrición Priscilla Patricia Gándara Fernández

Servicio Médico

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa

Instituciones de Educación Superior e Investigación Externas

Colaboradores

Dra. Rubiceli Medina Aguilar

Profesora Titular de Tiempo Completo

Departamento de Nutrición

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

Plantel San Lorenzo Tezonco

Dra. Georgina Hernández-Montes

Técnica Académica Titular B T.C.

Red de Apoyo a la investigación

Coordinación de la Investigación Científica. UNAM.
(RAI-CIC-INCMNSZ)

Dr. Carlos César Patiño Morales

Investigador Asociado

Laboratorio de Biología del Desarrollo y Teratogénesis Experimental

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Orientación:

- **Investigación básica (X)**
- **Investigación aplicada (X)**
- **Otros (), especificar: Investigación clínica**

1.5 Fecha de inicio y duración

Mayo 2024-Mayo 2028

Propuesta:

Resumen (media cuartilla).

El sobrepeso y la obesidad son los principales factores modificables de muerte prematura en humanos a nivel mundial, estas condiciones aumentan la probabilidad de que se desarrollen uno o varios elementos asociados al síndrome metabólico, como son: resistencia a la insulina y posteriormente su evolución a la *diabetes mellitus* tipo 2 (T2D) ¹. Aproximadamente a nivel mundial mueren 4 millones de personas cada año por complicaciones relacionadas con la obesidad ². La T2D se desarrolla progresivamente a lo largo de varios años en los individuos pre-diabéticos. El diagnóstico y tratamiento farmacológico tempranos, y los cambios en la dieta y el estilo de vida pueden prevenir con eficacia el desarrollo de la diabetes ³. Por lo tanto, la identificación de biomarcadores asociados con prediabetes y T2D es un área de investigación en desarrollo. En este campo se han propuesto múltiples biomarcadores, dentro de los cuales se incluyen la determinación de los niveles de glucosa en ayuno y la hemoglobina A1c glicada (HbA1c) como herramientas para evaluar el riesgo de diabetes ^{4,5}. Si bien son valiosos, estos biomarcadores no captan plenamente la complejidad del desarrollo de T2D, y tampoco pueden detectar individuos antes del inicio de la enfermedad. Para avanzar con este

objetivo se requiere algo más que la validez predictiva de un único biomarcador, y es necesario determinar un conjunto de marcadores moleculares que aumente la especificidad y sensibilidad de riesgo al desarrollo de T2D. En consonancia con esta hipótesis, se hace necesario justificar la investigación de otros factores y mecanismos que expliquen la variabilidad de la T2D. Estos factores incluyen la microbiota intestinal y sus metabolitos, que median la comunicación microbioma-hospedero y se han convertido en importantes contribuyentes a la salud y la enfermedad en humanos en los últimos años ⁶. Por otra parte, la función bioquímica y biológica de los marcadores asociados con el riesgo de desarrollar T2D en personas obesas a menudo se estudian de forma aislada y no se consideran las redes de señalización y vías biológicas en las que están involucradas. Debido a la complejidad de los aspectos fisiopatológicos de la enfermedad, la obesidad no puede considerarse únicamente un desequilibrio energético entre la ingesta y el gasto calórico ⁷. De forma relevante, se observa que no todas las personas con obesidad desarrollarán resistencia a la insulina a lo largo de su vida, por lo que la regulación epigenética y la comunicación con el microambiente pueden ser algunas de las causas subyacentes de diferentes resultados clínicos en individuos con obesidad ⁷.

Adicionalmente, se sabe que los alimentos funcionales contienen ingredientes activos que pueden estar asociados con el incremento de actividad antioxidante, antiinflamatoria o de sensibilidad a la insulina, las cuales se consideran funciones integrales en la prevención y tratamiento de T2D y su consumo puede traer efectos benéficos a la población en riesgo⁸. Dentro de los alimentos con funcionalidad se encuentran los alimentos fermentados, los cuales adicionalmente a los beneficios mencionados, incluyen grupos de probióticos que podrían enriquecer la microbiota intestinal y favorecer la eubiosis ^{9,10} aunado a sus beneficios en la salud.

Con base en lo anterior, en este proyecto se propone un estudio multidisciplinario que se centrará en identificar la estructura y metabolismo de la microbiota intestinal y marcadores moleculares circulantes novedosos de pre-diabetes y diabetes en la población de adultos jóvenes universitarios que forman la comunidad estudiantil de la UAM Cuajimalpa. Este será un ensayo controlado, longitudinal y prospectivo, que incluirá un programa de intervención nutricional para promover la adhesión de la población joven universitaria a una dieta sostenible, y evaluar sus efectos en los resultados clínicos y en los cambios en los

perfiles moleculares relacionados con T2D y obesidad. Específicamente, se analizarán las diferencias en la expresión de un perfil de microRNAs exosomales relacionados con la T2D y la composición de la microbiota intestinal en individuos obesos y no obesos que muestren al menos un marcador estandarizado relacionado con la T2D. Se implementará una estrategia de intervención nutricional con alimentos fermentados para determinar su beneficio en la salud de la población, particularmente se evaluarán los cambios de los marcadores asociados con la T2D y obesidad después de la intervención nutricional. Por otra parte, el estudio también incluirá experimentación *in vitro* para analizar funcionalmente los marcadores moleculares identificados en la población y la identificación de alimentos funcionales adecuados para este tipo de enfermedades.

Antecedentes

De acuerdo con la Federación Mundial de la Obesidad (<https://www.worldobesity.org/>), en el año 2022, México ocupó el quinto lugar en obesidad en el mundo y se estima que la cifra aumente a 35 millones de adultos para la siguiente década. Se estima que para el año 2035, los recursos invertidos en atender esta problemática representarán más del 2.9 % del PIB que rondará entre los 1634 billones de dólares ¹¹. El sobrepeso y la obesidad son los principales factores modificables de muerte prematura en humanos a nivel mundial, y aumentan la probabilidad de que se desarrolle el síndrome metabólico. La obesidad es una enfermedad multifactorial caracterizada por acumulación excesiva de grasa corporal que conlleva el desarrollo de comorbilidades metabólicas como hipertensión arterial, enfermedad cardiovascular, dislipidemias, resistencia a la insulina, T2D y otros padecimientos crónicos. La prevalencia mundial del sobrepeso y la obesidad en adultos ha sido del 39% y el 13%, respectivamente ⁷. La T2D es la patología más relacionada con la obesidad. Según el informe de la OMS del 2013, el 44% de la carga de T2D es atribuible al sobrepeso y la obesidad. Un estudio reciente ha demostrado que el sobrepeso y la obesidad representan el 85.8% de los casos de T2D. Se espera que la prevalencia de obesidad-diabetes se duplique a 300 millones en 2025. Por lo tanto, es de gran importancia entender la patogénesis de la T2D relacionada con la obesidad. Además, en el caso específico de México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2021, señaló que 12 millones 400 mil personas padecen diabetes. De ésta, la T2D es la más común en personas

mayores de 60 años. En los últimos 10 años la incidencia de T2D incrementó un punto porcentual, al pasar de 9.2 % a 10.2 %, con mayor proporción en mujeres. La T2D es una epidemia de crecimiento alarmantemente rápido en la que los pacientes desarrollan hiperglucemia como resultado de niveles inadecuados de insulina plasmática para mantener la homeostasis de la glucosa. Según su fisiopatología, la diabetes se puede clasificar como diabetes tipo 1 (T1D), T2D, hiperglucemia en el embarazo (diabetes gestacional) y diabetes que tiene una etiología específica (incluyendo genética o secundaria a medicamentos, factores pancreáticos u otras enfermedades) ^{12,13}. Las dos formas más comunes de diabetes son la T1D y T2D. La T1D, representa del 5% al 10% de todos los casos de diabetes, es una enfermedad autoinmune que resulta en la destrucción de células β -pancreáticas. La T2D representa más del 90% de todas las formas de diabetes, por lo que es la más común en la población y está altamente asociada con la obesidad ¹⁴. En términos de la fisiopatología, la T2D se caracteriza por la hiperglucemia resultante de defectos en la producción y secreción de insulina por células β -pancreáticas y/o el desarrollo de resistencia a la insulina en tejidos periféricos, incluyendo hígado, tejido adiposo y músculo ¹⁵. Más de la mitad de las personas con diabetes, principalmente T2D, no se diagnostican tempranamente, y el diagnóstico se presenta hasta que aparecen complicaciones graves. En este sentido, el diagnóstico precoz puede frenar el aumento de la incidencia de la T2D y sus complicaciones¹⁶. En los pacientes diagnosticados con T2D, la progresión de la enfermedad puede ser acelerada por factores agravantes como son la falta de monitoreo glucémico riguroso, el tratamiento insuficiente, la adherencia inadecuada al tratamiento y la omisión a los cambios en el estilo de vida (dieta y ejercicio) ¹⁷. Debido a que la diabetes temprana es en gran parte asintomática, muchos pacientes están en riesgo de desarrollar complicaciones potencialmente mortales debido a la hiperglucemia. En los países de ingresos bajos y medios, los pacientes presentan un riesgo aún mayor de complicaciones debido a una mala alimentación y a una atención sanitaria inadecuada y deficiente ¹⁸. La resistencia a la insulina comúnmente se relaciona con el desarrollo de T2D asociada con la obesidad. En pacientes obesos, una reducción en la señalización de insulina puede resultar de cantidades elevadas de citocinas pro-inflamatorias (IL-1, TNF- α , entre otras), disfunción mitocondrial, disfunción endocrina, metabolismo lipídico deteriorado, estrés del retículo endoplásmico e hipoxia del tejido adiposo ^{19, 20}. Una red

altamente compleja de comunicación entre órganos juega un papel clave en la regulación de la señalización de insulina, involucrando un escenario complejo de mediadores de comunicación celular como nutrientes metabolitos, vesículas extracelulares, péptidos y proteínas ²¹. Los nuevos enfoques en análisis masivo de moléculas como la genómica, metabolómica y proteómica aunado al desarrollo de la bioinformática y la biología de sistemas se han utilizado para identificar los biomarcadores prometedores para la detección temprana y el manejo de la obesidad y T2D ^{22, 13, 23}. En este sentido, la T2D se considera una enfermedad metabólica multifactorial, crónica y compleja, en la que los antecedentes familiares, edad, estilo de vida, dieta, genética y factores ambientales juegan un papel relevante en su fisiopatología. Los síntomas iniciales pueden ser polidipsia (sed excesiva), poliuria (mayor necesidad de orinar), polifagia (hambre excesiva), y finalmente, la pérdida de peso. Además, existe una multitud de complicaciones gastrointestinales atribuidas a la T2D. Por ejemplo, el 75% de los pacientes experimentan síntomas gastrointestinales, generalmente en el contexto de una neuropatía autonómica ²⁴. También se ha reportado que las mujeres con T2D tienen una mayor probabilidad general de experimentar síntomas gastrointestinales en comparación con los hombres ²⁵. En este contexto, los síntomas gastrointestinales a menudo, pero no siempre, se correlacionan con el control glucémico, así como con el tiempo que tenga el paciente con la T2D. De manera específica, se puede presentar una condición de diarrea crónica acuosa, la cual es uno de los síntomas más debilitantes de la T2D y se denomina diarrea diabética ²⁶. De manera adicional, la T2D desencadena una serie de complicaciones con un alto grado de morbilidad y mortalidad, lo que resulta en un alto número de consultas médicas, hospitalizaciones, discapacidades, y muertes. Ejemplos de estas complicaciones multi-sistémicas incluyen eventos micro-vasculares como retinopatía, nefropatía, neuropatía; y eventos macro-vasculares, incluyendo cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular y enfermedad vascular periférica ¹⁵. Las estrategias de detección temprana de la T2D tienen un impacto positivo en la calidad de vida y reducción de los costes sanitarios, ya que reducen la generación de sus complicaciones sistémicas ¹⁶. Por lo tanto, desarrollar estrategias centradas en el diagnóstico, control y tratamiento serán una prioridad en los próximos años. Las personas con T2D requieren atención médica continua, incluyendo la intervención farmacológica, así como los cambios en el estilo de vida y la dieta. La **T2D** ocurre con más frecuencia en

adultos de mediana edad y ancianos, y su causa es multifactorial. Sin embargo, **su incidencia ha aumentado en niños y adultos jóvenes debido a la obesidad, el estilo de vida sedentario y la nutrición inadecuada.** Esta alta incidencia también está acompañada de una prevalencia estimada de más del 50% en todo el mundo. La implementación de estrategias exitosas, rentables y sostenibles para la detección sistemática de la T2D es imprescindible para asegurar la detección temprana, reduciendo el riesgo de los pacientes de desarrollar complicaciones de enfermedades potencialmente mortales. Por lo tanto, es esencial identificar nuevos biomarcadores para la T2D en población con alto riesgo de desarrollarla como son los jóvenes adultos que padecen obesidad.

Marcadores diabéticos en la clínica

Según los "Estándares de Atención Médica en Diabetes" publicados por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) ²⁷ y las directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la diabetes puede ser diagnosticada con base en la concentración de glucosa plasmática: 1) glucosa plasmática en ayunas (GPA), 2) por la tolerancia a la glucosa plasmática después de dos horas de la administración oral de 75 g de glucosa (TG) y 3) la hemoglobina glicada A1c (HbA1c). El estado pre-diabético es un estado intermedio hiperglucémico en el que los marcadores glucémicos están por arriba del umbral considerado saludable normo-glicémico pero por debajo de los criterios de diagnóstico para la diabetes. En esta condición, los pacientes pueden presentar, una (IFG, IGT) o las dos condiciones de pre-diabetes (IFG+IGT) al mismo tiempo. Además, este estado constituye un alto riesgo para el desarrollo de diabetes y complicaciones asociadas con la pérdida de control glucémico. Los valores diagnósticos de referencia para prediabetes y la diabetes no se han estandarizado universalmente. Sin embargo, la gran mayoría de las guías clínicas se basan en los criterios de la OMS y ADA. Referencias: Informe mundial sobre la diabetes. Diagnóstico de la diabetes: normas de atención médica en la diabetes ^{27,28}.

Valores de referencia para el diagnóstico de prediabetes y T2D

Valores diagnósticos de referencia:

Pre-diabetes:

ADA: glucosa plasmática en ayunas (GPA): 100-125 mg/dL; hemoglobina glicada (HbA1c): 5.7-6.4%; Prueba de tolerancia a la glucosa (TG), 2 h :140-199 mg/dL. OMS: GPA: 110-125 mg/dL, HbA1c: No se recomienda

Diabetes:

ADA GPA: 126 mg/dL, HbA1c \geq 6,5%, TG, 2 h: \geq 200 mg/dL

En México, las guías de práctica clínica recomiendan establecer el diagnóstico de diabetes cuando los pacientes presentan poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso acompañada de una concentración de glucosa en ayunas de 200 mg/dL independientemente del tiempo transcurrido desde la última comida. Estos síntomas representan un caso típico de diabetes con hiperglucemia evidente ²⁹. Sin embargo, algunos pacientes con riesgo de desarrollar T2D o con diagnóstico de T2D pueden presentar pocos de estos síntomas o pueden ser completamente asintomáticos. Según las recomendaciones del ADA, deben obtenerse dos resultados anormales de la misma muestra o dos muestras diferentes para confirmar un diagnóstico. Por otra parte, la HbA1c es un marcador más fiable para evaluar la presencia y gravedad de la enfermedad. Por lo tanto, la ADA y la OMS recomiendan este método como prueba adecuada para la detección y el diagnóstico de la diabetes. El objetivo final de las directrices para el tamizado, diagnóstico y seguimiento de la T2D no debe ser buscar una concordancia perfecta entre los biomarcadores. Más bien, su determinación debe identificar a los individuos con niveles glucémicos alterados en riesgo de sufrir complicaciones a largo plazo. La evidencia de estudios que comparan el desempeño de nuevos marcadores glucémicos como la albúmina glicada (GA), la fructosamina (FA) y el 1,5-anhydroglucitol (1,5-AHG) ha demostrado que proporcionan información clínica independiente y pueden mejorar el valor pronóstico de los marcadores convencionales ³⁰. Estudios previos han confirmado que los marcadores de FA, GA y 1,5-AHG están fuertemente relacionados con el riesgo de desarrollar diabetes. Estos marcadores intermedios pueden utilizarse para determinar el riesgo de T2D y sus complicaciones independientemente de los valores de glucosa en sangre en ayunas y HbA1c.

Nuevas estrategias de investigación en T2D

Exosomas celulares

Los exosomas son un tipo de microvesículas de un tamaño de 50 a 200 nm que están compuestas por una bi-capa lipídica, se producen dentro de las células y se liberan al espacio extracelular a partir de cuerpos multivesiculares ³¹. En organismos multicelulares, los exosomas se han aislados de diversos fluidos biológicos, incluyendo sangre, orina, saliva, leche materna, líquido seminal, líquido amniótico, ascitis, líquido cefalorraquídeo, bilis entre otros. La vía de secreción de exosomas inicia con la formación de vesículas intracelulares (endosomas multivesiculares o cuerpos multivesiculares) durante la diferenciación de reticulocitos y se liberan por la fusión con la membrana celular. Una vez liberados de la célula productora, los exosomas son reconocidos e internalizados por su célula receptora para regular su actividad bioquímica ³². Las proteínas asociadas con exosomas incluyen proteínas de transporte de membrana como tetraspaninas, proteínas de choque térmico, flotillinas, anexinas y RAB GTPasas entre otras. Típicamente, las proteínas sobre-expresadas en las células suelen localizarse también de forma abundante en los exosomas ³³. Además de proteínas, los exosomas son caracterizados por su diversidad lipídica, estos incluyen fosfolípidos, esfingolípidos y colesterol. Generalmente, la distribución y composición de los lípidos exosomales es diferente de la composición lipídica de la membrana citoplasmática de la célula donante ³⁴. Junto con la estabilidad estructural y la rigidez, los lípidos exosomales participan en varias vías biológicas y cascadas de señalización al interactuar con fosfolipasas y prostaglandinas. Además de lípidos y proteínas, los exosomas están altamente enriquecidos en RNA mensajeros (RNAm), RNAs largos no codificantes y microRNAs (miRNAs), los cuales juegan un papel clave en la regulación de la expresión genética a nivel transcripcional y epigenético, y en la producción de proteínas ³⁵. De manera relevante, los RNAs exosomales regulan diversas vías de señalización en las células receptoras. Los contenidos exosomales son representativos del tipo y el origen de las células que los biosintetizan, porque pueden considerarse como la huella dactilar de las células ^{36,37}. En conjunto, las biomoléculas contenidas en un exosoma se denominan *moléculas cargo*. Por todo lo anterior, los exosomas y sus moléculas cargo pueden utilizarse como biomarcadores para el diagnóstico, el pronóstico y la respuesta a tratamientos en diversas enfermedades. Adicionalmente, la especificidad de sus moléculas cargo permiten regular procesos fisiológicos y patológicos en las células receptoras, haciendo así a los exosomas blancos terapéuticos ideales ³⁸.

Los exosomas juegan un papel importante en la comunicación intercelular autócrina, parácrina y endócrina en diversas patologías humanas incluyendo a la T2D ³⁵. Los exosomas derivados de diversas fuentes celulares tales como tejido adiposo, hígado y músculo esquelético contribuyen al desarrollo de la resistencia a la insulina en la obesidad³⁹. Los exosomas también sirven como mediadores circulantes en la T2D a través de transferir moléculas cargo funcionales para la fisiopatología sistémica ^{37,40}. En la obesidad, el estudio de moléculas cargo de exosomas derivados de adipocitos, orina y plasma han permitido entender su patogenia y las enfermedades relacionadas con la obesidad, incluyendo la diabetes.

microRNAs exosomales en obesidad y diabetes

Los miRNAs son pequeñas moléculas de RNA no codificantes. Los miRNAs funcionan en la regulación post transcripcional de la expresión génica al promover el silenciamiento de los RNAm para evitar la producción de proteínas ⁴¹. Muchos miRNAs, como son let-7, miR-223, miR-29, miR-103 y miR-107, regulan desórdenes metabólicos a través de la alteración de diversas vías moleculares que participan en el metabolismo de lípidos o de la glucosa, gluconeogénesis del hígado, la secreción de la insulina y autofagia⁴². Los miRNAs contenidos en exosomas funcionan de manera muy eficiente en tejidos distantes. De esta forma, algunos miRNAs exosomales son factores patológicos en T2D regulando negativamente la producción de proteínas que participan en la sensibilidad a la insulina. Por ejemplo, la insulina unida a su receptor (IRS-1) estimula la vía de señalización PKB/AKT. La fosforilación de AKT en la serina 473 promueve la translocación del transportador de glucosa-4 (Glut4) del citosol a la membrana para la absorción de glucosa⁴³. Katayama y colaboradores reportaron que el miR-20b-5p exosomal es muy abundante en pacientes con T2D. Se demostró que el miR-20b-5p exosomal regula negativamente a la proteína AKTIP que interactúa y controla la actividad de AKT mejorando la fosforilación de los sitios reguladores de AKT. Por este mecanismo, miR-20b-5p exosomal reduce la acumulación de glucógeno en el músculo esquelético humano primario, lo que resulta en resistencia a la insulina ⁴⁴. Otro estudio demostró que los exosomas derivados de células tumorales pancreáticas inhiben la señalización de la insulina vía PI3K/ Akt en miotubos C2C12. Los exosomas evitan la translocación nuclear del factor de transcripción FoxO1 inducida por

insulina, afectando el tráfico de Glut4. En este estudio revelaron que los miRNAs exosomales miR-450b-3p y miR-151-3p probablemente desempeñan papeles clave en este proceso ⁴⁵. Además, el miR-155 exosomal derivado de los macrófagos del tejido adiposo en ratones diabéticos inducidos por obesidad causa intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina al regular negativamente el factor de transcripción PPAR γ , un regulador clave del metabolismo lipídico. Otro elegante experimento demostró que los exosomas de ratones obesos podrían inducir intolerancia a la glucosa en ratones no obesos ⁴⁰. En este estudio, los autores transfectaron miRNAs exosomales que están aumentados en ratones obesos (miR-192, miR-122, miR-27a-3p y miR-27b-3p) y se demostró que los ratones no obesos desarrollaron intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. Además, los datos mostraron que los miRNAs exosomales indujeron diabetes en ratones no obesos regulando el factor de transfección PPAR α en tejidos adiposos ³⁵.

Dieta sostenible y alimentos con funcionalidad: los alimentos fermentados

De acuerdo a la definición de la FAO (FAO, 2010 <https://www.fao.org/documents/card/en/c/ca6640es>), las dietas sostenibles tienen bajo impacto ambiental, contribuyen a la seguridad alimentaria y nutricional y a la vida sana de las generaciones presentes y futuras. Por otro lado, los alimentos funcionales son aquellos que se les ha añadido o eliminado algún componente, o modificado su biodisponibilidad favoreciendo que cumpla una función positiva en el cuerpo, así como brindando propiedades fisiológicas o psicológicas cuando se le añaden nutrientes o componentes que usualmente no se encuentran en dicho alimento ⁸. Los alimentos fermentados como yogurt, kéfir o kombucha, son alimentos funcionales donde los microorganismos presentes han transformado el alimento o bebida original proporcionando los beneficios de dicho alimento funcional ^{9,10}. La kombucha es una bebida tradicional de origen asiático fermentada por un consorcio de bacterias y levaduras embebidas en una biopelícula llamada SCOBY (por sus siglas en inglés). Esta bebida es a base de té negro, no alcohólica, refrescante, ligeramente dulce y ácida. En ella se encuentran probióticos, vitaminas, polifenoles y ácidos orgánicos con efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antibióticos ⁴⁶. El kéfir es una bebida a base de leche, parecida al yogurt y fermentado por un consorcio de bacterias lácticas y levaduras agrupadas en nódulos de polisacáridos conocidos como búlgaros. Sus propiedades

probióticas son conocidas por fortalecer la microbiota intestinal mejorando los procesos digestivos ⁴⁷. Los alimentos fermentados tienen un potencial funcional que podría apoyar en tratamientos y prevención de T2D enriqueciendo la microbiota intestinal y aportando nutracéuticos *ad hoc* ⁴⁸. Adicionalmente, los alimentos fermentados elaborados en regiones cercanas donde serán consumidos, abonan a las dietas sostenibles y saludables.

Microbiota intestinal

A pesar de las diferencias interindividuales en la estructura y diversidad del microbioma intestinal humano, las vías metabólicas y funcionales microbianas permanecen estables entre individuos sanos ⁴⁹. El microbioma intestinal humano codifica al menos 10 veces más genes que el genoma humano y la redundancia funcional entre algunos de estos genes permite que diferentes microbios creen comunidades individualizadas que llevarán a cabo las mismas funciones para mantener la homeostasis y una relación simbiótica con el huésped humano ⁵⁰.

En este sentido, se han reportado diferencias en la composición de la microbiota intestinal en humanos que se relacionan con diferentes enfermedades como son: 1) enfermedades cardiovasculares ⁵¹, 2) T2D ⁵², 3) obesidad ⁵³, 4) hipertensión ⁵⁴, 5) depresión ⁵⁵, 6) Covid19 ⁵⁶, 7) autismo ⁵⁷, entre otras ⁵⁸.

Debido a lo anterior existe un creciente interés en estudiar la microbiota intestinal humana relacionada con las enfermedades, en parte porque parece estar muy influenciada por intervenciones que mejoran los síntomas o las enfermedades, como los medicamentos, la dieta y el estilo de vida. Por ejemplo, las personas que comen carne roja exhiben mayores niveles del metabolito intestinal N-óxido de trimetilamina (TMAO) que los que no comen carne. Es importante destacar que la TMAO se asocia con una mayor formación de placa en las arterias ⁵⁹. El hecho de que los productos del metabolismo microbiano desempeñen un papel integral en muchas vías metabólicas del hospedero sugiere que los trastornos metabólicos complejos pueden beneficiarse de alteraciones específicas en la microbiota a través de intervenciones dietéticas, farmacológicas, de estilo de vida y de ingeniería de microbiomas ⁶⁰.

Dada la complejidad de las relaciones entre la microbiota intestinal y las enfermedades metabólicas, como la obesidad y la diabetes, resulta interesante identificar perfiles

moleculares entre pacientes con obesidad y aquellos sin obesidad, pero con riesgo de desarrollar T2D. El propósito de esto es detectar tempranamente a individuos en riesgo y, al mismo tiempo, comprender la relación entre la obesidad, la T2D y la microbiota intestinal. Además, es importante destacar que dado que estas patologías (obesidad y T2D) están estrechamente relacionadas con la dieta y el estilo de vida, es fundamental llevar a cabo estudios en diversos grupos poblacionales con distintos patrones dietéticos y estilos de vida. Por todas estas razones, un análisis de este tipo será de gran utilidad para abordar un problema de salud pública en México para el cual, lamentablemente, no se dispone de información suficiente.

Población beneficiada y/o atendida.

Estudiantes jóvenes adultos universitarios de la UAM Unidad Cuajimalpa

Hipótesis

1. Los adultos jóvenes obesos y no obesos que presentan índices elevados de glucosa, hemoglobina glicada (HbA1c) y grasa corporal producirán un perfil de miRNAs exosomales en suero, probablemente asociado con la señalización de insulina, metabolismo de glucosa e inflamación.
2. Los adultos jóvenes obesos y no obesos que muestran índices elevados de glucosa, HbA1c glicada y grasa corporal presentarán una microbiota intestinal asociada con la T2D.
3. Los adultos jóvenes obesos y no obesos que presentan mejorarán sus niveles de glucosa, HbA1c glicada y grasa corporal después de la intervención nutricional y el consumo de la kombucha como alimento funcional.
4. La composición de la microbiota intestinal y los exosomas circulantes se verá modulada por el consumo de alimentos funcionales y esto correlacionará con la mejoría del estado nutricional de la población analizada. Específicamente con las vías de señalización de insulina, metabolismo de glucosa e inflamación.

Objetivo general y objetivos particulares

Objetivo general

Evaluar el efecto de la intervención nutricional sostenible a través de la caracterización de parámetros moleculares circulantes y de la microbiota intestinal en jóvenes universitarios de la UAM Unidad Cuajimalpa propensos a obesidad y T2D.

Objetivos particulares

1. Generar y caracterizar la cohorte de la población de estudio.
2. Desarrollar un plan de nutrición para jóvenes universitarios.
3. Incorporar a la población de estudio en una intervención nutricional sostenible que incluya un alimento funcional.
4. Elaborar y caracterizar el alimento funcional, desde un enfoque bioquímico, fisicoquímico y microbiológico, así como analizar su potencial probiótico.
5. Determinar y caracterizar la línea base de los biomarcadores séricos de diabetes antes y después de la intervención nutricional.
6. Analizar los posibles efectos de la incorporación del alimento funcional en la dieta.
7. Caracterizar los exosomas circulantes y evaluar los miRNAs cargo relacionados con el riesgo de desarrollar T2D en la población de estudio antes y después de la intervención nutricional.
8. Caracterizar la estructura y composición de la microbiota intestinal en la población de estudio antes y después de la intervención nutricional mediante el uso de herramientas de la metagenómica.
9. Evaluar los ácidos grasos de cadena corta en suero y en heces fecales y metabolitos derivados del alimento funcional.

Descripción, incluyendo hipótesis y metodología

Aspectos éticos

Este proyecto tiene como objetivo identificar marcadores moleculares circulantes y de la microbiota intestinal en la población de adultos jóvenes universitarios con obesidad y sin obesidad clínica que tengan riesgo de desarrollar T2D. Este estudio será un ensayo controlado aleatorio de cuatro etapas que incluirá un programa de intervención nutricional para promover la adhesión de la población joven universitaria a una dieta sostenible, y

evaluar sus efectos en los resultados clínicos y en los cambios en el perfil molecular relacionados con T2D y obesidad. Los participantes estarán informados de todos los detalles del protocolo, del manejo y uso de sus muestras biológicas y se preservarán sus datos personales. En todo momento se trabajará con responsabilidad moral respetando a las personas participantes, y preservando su salud. Se promoverá el cuidado al medio ambiente a través del manejo y desecho adecuado de los residuos biológicos de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002. De acuerdo con el Artículo 57 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (RLGSMIS), los y las estudiantes, se consideran grupos subordinados, y la subordinación es una condición de vulnerabilidad. Por lo anterior, la invitación a participar en el estudio será difundida mediante un volante electrónico distribuido desde los canales oficiales de la UAM-C, esto es, desde la oficina de difusión universitaria, servicios generales, servicios escolares o difusión cultural. En ningún momento se invitará a los alumnos y alumnas a participar desde las aulas o laboratorios por parte del profesorado, de las personas trabajadoras del Servicio Médico o de algún órgano personal. La participación del alumnado será totalmente libre y podrán abandonar el estudio en el momento que lo deseen sin ser sujeto de alguna sanción de ningún tipo. Las personas que deseen participar en el protocolo deberán firmar la carta de consentimiento informado en materia de investigación. En ningún momento los sujetos de investigación pagarán ninguna de las evaluaciones que se realicen durante el estudio. Su participación en este estudio es completamente gratuita.

Etapas 1

Se invitará a una muestra de adultos jóvenes mexicanos (18-35 años) que pertenezcan a la comunidad Universitaria de la UAM unidad Cuajimalpa. La población será dividida (proporción 1:1) en un grupo de control (sin obesidad clínica) ($n = 100$) y un grupo experimental (con obesidad) ($n = 100$). Se evaluarán los marcadores de diabetes (Glucosa en ayuno y prueba de tolerancia a la glucosa, HbA1c). Posteriormente, la población se dividirá en 4 grupos que consistirán en un grupo control (sin obesidad clínica y marcadores diabéticos negativos; $n = 25$), un grupo experimental 1 (sin obesidad clínica y marcadores diabéticos positivos; $n = 25$), un grupo experimental 2 (con obesidad clínica y marcadores

diabéticos negativos; n = 25), un grupo experimental 3 (con obesidad clínica y marcadores diabéticos positivos a diabetes n = 25).

Se implementará la intervención nutricional durante 12 semanas para el grupo control y los 3 grupos experimentales. Después de la intervención nutricional se medirán los marcadores de diabetes y metabólicos. Los datos de los grupos serán relacionados con la calidad de la dieta, el estado nutricional, la edad, actividad física, estado de estrés, ingesta de agua. Los resultados incluirán la salud, la nutrición, el comportamiento y el conocimiento nutricional sostenible.

Los resultados permitirán aproximarnos a los índices de obesidad y diabetes en la población universitaria. Los datos de los grupos serán relacionados con la calidad de la dieta, el estado nutricional, la edad, actividad física, estado de estrés, contenido graso, ingesta de agua. Los resultados incluirán datos de la salud, la nutrición, el comportamiento y el conocimiento nutricional sostenible.

Etapas 2

Se aislarán y caracterizarán los exosomas circulantes en suero y un grupo de miRNAs cargo relacionados con T2D; y la composición de la microbiota intestinal en 15 individuos de cada uno de los grupos de estudio tomados aleatoriamente del grupo control y los 3 grupos experimentales. En la muestra de suero de los pacientes se identificará un grupo de miRNAs exosomales que han sido reportados en poblaciones diabéticas relacionada con la obesidad (Sobre-expresados miR-126-5p, miR-30d-5p, miR-122-5p, miR-192-5p, miR-375-5p, miR-24-5p, miR-29b-5p. Exosomales miR-21-5p; miR-375-3p, miR-133b-5p, miR-342-5p, miR-30-5p; Baja expresión: miR-146a-5p, miR-122-5p, miR-10b-5p).

La microbiota intestinal será evaluada a partir de una muestra fecal de los pacientes. La identificación de las poblaciones microbianas se hará a través de metagenómica.

Etapas 3

Se reclutará una segunda cohorte de participantes con las mismas características de la primera cohorte. En esta etapa se iniciará la investigación de alimentos funcionales y su relevancia en el estado nutricional de la población. Junto con la intervención nutricional, a los participantes se les proporcionará la bebida funcional (kombucha) en una dosis de 240

mL o 4 oz, 3 veces a la semana). Se evaluará el rol de los alimentos funcionales sobre los índices de marcadores estándares de diabetes (glucosa en ayuno y prueba de tolerancia a la glucosa, la HbA1c) y en la modulación de la composición de la microbiota intestinal y de los exosomas circulantes. Además, se caracterizará a la kombucha fisicoquímica, microbiológica y bioquímicamente, y se evaluará su potencial probiótico *in vitro*.

Etapas 4

Se evaluarán los cambios en los marcadores exosomales en suero asociados con el riesgo de obesidad y la composición y estructura de la microbiota intestinal después del consumo del alimento funcional en los individuos del grupo control y los grupos de estudio. Los efectos del alimento funcional se evaluarán utilizando modelos de efectos mixtos sobre la ingesta y la calidad de la dieta, el estado nutricional, la actividad física y los marcadores estándares de diabetes, la composición de los exosomas y la composición de la microbiota intestinal.

Se evaluarán los cambios en los marcadores circulantes y de la microbiota intestinal en esta segunda cohorte de estudio. Todos los cambios benéficos al estado de salud de los individuos participantes serán relacionados con la composición exosomal circulante y la composición y estructura de la microbiota intestinal. Se esperan mejoras en los resultados de salud, una disminución de los marcadores séricos asociados con diabetes, y cambios en la microbiota intestinal.

Métodos

Diseño del estudio

Ensayo controlado aleatorio longitudinal analítico. Este protocolo de estudio consta de cuatro etapas para un programa de intervención nutricional para promover la adhesión de la población joven universitaria a una dieta sostenible y evaluar sus efectos en los resultados clínicos asociados a la disminución de marcadores de diabetes.

En la etapa 1, se reclutará la muestra de 100 adultos jóvenes mexicanos (18-35 años) que pertenezcan a la comunidad universitaria de la UAM unidad Cuajimalpa. La población será dividida (proporción 1:1) en un grupo control (sin obesidad clínica) (n 50) y un grupo experimental (con obesidad) (n 50). Se evaluarán los marcadores antropométricos y

bioquímicos de obesidad y diabetes. Posteriormente, la población se dividirá en 4 grupos que consistirán en el grupo control (sin obesidad clínica y marcadores de diabetes negativos; n 25); un grupo experimental 1 (sin obesidad clínica y marcadores de diabetes positivos; n 25), un grupo experimental 2 (con obesidad clínica y marcadores de diabetes negativos; n 25), un grupo experimental 3 (con obesidad clínica y marcadores de diabetes positivos; n 25). Los resultados permitirán aproximarnos a los índices de obesidad y diabetes en la población universitaria. Los datos de los grupos serán relacionados con la calidad de la dieta, el estado nutricional, la edad, actividad física, estado de estrés e ingesta de agua. Los resultados incluirán la salud, la nutrición, el comportamiento y el conocimiento nutricional sostenible.

Población de estudio

Se reclutará una muestra de 100 personas adultas jóvenes (18-35 años) que pertenezcan a la comunidad universitaria de la UAM unidad Cuajimalpa. El tamaño de la muestra se calculó considerando un valor de α igual a 0.05 y considerando un intervalo de confianza del 95%.

$$n = [(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \times \{2(o)^2\}] / (\mu_1 - \mu_2)^2$$

n = tamaño de muestra requerido en cada grupo

μ_1 = cambio medio en los resultados primarios de otros similares estudios = 5

μ_2 = cambio medio en los resultados primarios = 4.5

$\mu_1 - \mu_2$ = diferencia significativa = 0.5

o = desviación estándar = 1.195

$Z_{\alpha/2}$: 1.96 (basado en un 5 % del nivel de significación)

Z_{β} : 0.84 (basado en el 80 % de la potencia).

Sobre la base de la fórmula anterior, el tamaño de la muestra requerido por grupo es 45. Por lo tanto, el tamaño total de la muestra requerida es 90. Considerando una tasa de abandono del 10 %, el tamaño total de la muestra experimental requerido es de 100. La población será dividida (proporción 1:1) en un grupo de control (sin obesidad clínica) (n=50) y un grupo experimental (con obesidad) (n=50). La obesidad será determinada por el índice

de masa corporal (IMC) en kg/m² (IMC > 30). Serán excluidos sujetos que ya presentan diagnóstico de T2D, hipertensión, procesos carcinogénicos, enfermedades autoinmunes o patologías crónicas intestinales. Todas las personas participantes serán entrevistadas y se solicitará su consentimiento informado. Serán resguardados los datos personales. Todos los procedimientos se llevarán a cabo siguiendo las directrices de buenas prácticas clínicas, éticas y bioéticas. Todos los datos recogidos durante el proyecto serán codificados y anonimizados con fines de confidencialidad de la persona participante. El protocolo será sometido al comité de bioética institucional.

Criterios de inclusión:

1. Adultos jóvenes obesos/con sobrepeso/no obesos/sin T2D que están teniendo su primera visita al Servicio de Nutrición de la UAM Unidad Cuajimalpa.
2. Adultos jóvenes obesos/con sobrepeso/no obesos/con prediabetes (HbA1c entre 5.7-6.4%) y T2D (HbA1c 6.5%) que están teniendo su primera visita al Servicio de Nutrición de la UAM Unidad Cuajimalpa.
3. Mujeres y hombres de 18 a 35 años
4. Aceptar participar en el estudio mediante firma de consentimiento informado

Criterios de exclusión:

1. Actualmente o en el último mes tomado corticosteroides sistémicos o inhalados, antipsicóticos, medicamentos para bajar de peso, topiramato, uso agudo de anticonceptivos (menos de 3 meses) o acetato de medroxia-progesterona, medicamentos para tratar el TDAH
2. Sujetos con cualquier síndrome genético
3. Sujetos con hipotiroidismo descompensado (tratados con levotiroxina y un TSH >10 µIU/mL)
4. Mujeres que informan por sí mismas que están embarazadas (se excluye el embarazo tanto en el estudio principal como en el secundario)
5. Serán excluidos sujetos que ya presentan diagnóstico de T2D, hipertensión, procesos carcinogénicos, enfermedades autoinmunes o patologías crónicas intestinales.

Criterios de eliminación:

1. Sujetos que no firmen consentimiento informado
2. Sujetos que abandonen el estudio
3. Pérdida de muestras biológicas

Intervención Nutricional

[Lic. en Nutrición Priscilla Patricia Gándara Fernández, UAM-C (atención nutricia y seguimiento clínico de los individuos participantes); Dra. Rubiceli Medina UACM (análisis y discusión de resultados, recomendaciones nutricionales y de selección de grupos)].

Para brindar la atención nutricia, se consideran cuatro valoraciones: Si el consultante refiere tener algún padecimiento, como por ejemplo gastritis, colitis, hiperlipidemia, hipertensión arterial, entre otros, se le brindan recomendaciones específicas al padecimiento.

1. Historia clínica:

Es un cuestionario donde se obtiene información referente a:

- Motivo de la consulta u objetivo nutricional
- Estado de salud
- Medicamentos
- Alergias o intolerancias alimentarias.
- Suplementos
- Estreñimiento
- Tratamientos Hormonales
- Embarazo o lactancia
- Cambios en el peso o estado de nutrición
- Actividad física o ejercicio
- Consumo de cigarro

● Valoración bioquímica:

Se le recomienda al consultante que lleve los siguientes estudios de laboratorio:

- Biometría hemática
- Química Sanguínea (de 6 o más elementos)

(No todos los consultantes llevan estudios o se los han realizado en algún momento)

- **Valoración dietética:**

Se obtiene información referente a:

- Cambios en la alimentación en los últimos 6 meses.
- Lugar donde realiza sus comidas
- Alimentación habitual entre semana y fin de semana.
- Horarios de comidas.

- **Valoración antropométrica:**

Consiste en realizar mediciones de estatura y peso, grasa, agua, masa muscular, grasa visceral y circunferencia de cintura.

5. Planes de alimentación:

Los planes que se realizan son con todos los grupos de alimentos, siguiendo las siguientes recomendaciones:

- Preferencia por cereales integrales o con granos enteros.
- Consumo de verduras y frutas.
- Alimentos de origen animal bajos en grasa.
- Consumo de leguminosas y oleaginosas.
- Moderación en el consumo de grasas de origen animal.
- Limitación de azúcares.
- Realización de 3 tiempos de comida principales y de 2 a 3 colaciones.

La distribución de macronutrientes es de un 40% a un 50% de Hidratos de Carbono, 20% Proteínas y 30 a 40% Grasas.

La distribución se determina, según los hábitos del consultante, sus objetivos y la valoración inicial. Los planes son de 1300 kcal a 2500 kcal principalmente, pero se pueden brindar más kcal.

Los planes que se realizan son de 1300 kcal a 1600 kcal para mujeres y de 1500 kcal a 2000 para hombre, esto es en promedio, puede haber casos que sean más o menos calorías.

En las citas de seguimiento se pregunta cómo realizaron el plan que se les brindó y si realizaron actividad física o ejercicio. También se pueden hacer ajustes al plan de alimentación.

El tiempo de la intervención nutricional es hasta que el consultante logre su objetivo o ya no quiera asistir a consulta.

Elaboración y caracterización de los alimentos funcionales (kombucha)

(Dra. Dolores Reyes Duarte, M.C. Sergio Hernández, Dra. Teresa de Jesús García Pérez)
Se proporcionarán las porciones necesarias de kombucha para los participantes en el estudio en volumen de 240 mL por participante. Las fermentaciones de dichos alimentos se elaborarán de acuerdo con los protocolos desarrollados en el curso de “Temas selectos en Ingeniería Biológica (fermentaciones tradicionales)”. La ingesta será de 3 porciones semanales. Para preparar la infusión del té negro se hierve agua (400mL) con té negro (9 g) y azúcar (90 g) en una estufa o parrilla de calentamiento. Una vez lista la infusión se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se filtran los residuos del té. En un vitrolero se agregan 1.2 L de agua y 200 mL de líquido iniciador, se añade la infusión de té previamente filtrada y finalmente se añade el SCOBY (colonia simbiótica de bacterias y levaduras). Se tapa con

una gasa y se deja fermentar por 7 días en la oscuridad ⁶¹. Se realizará la caracterización proximal inicial de la materia prima. La caracterización bioquímica incluirá la detección e identificación de biomoléculas mayoritarias en la kombucha; la caracterización fisicoquímica consistirá en mediciones de acidez, actividad antioxidante y grados brix. Para la caracterización microbiológica se analizará la composición del SCOBY con herramientas de metagenómica de tipo shotgun y de los microorganismos presentes en la kombucha (bacterias y levaduras) por técnicas de microbiología tradicional. El potencial probiótico se evaluará a través de la identificación de microorganismos ya reconocidos como probióticos y de dos ensayos que caracterizan a probióticos potenciales.

Colección de muestras y evaluación de biomarcadores de diabetes (Servicio Médico UAM Unidad Cuajimalpa, jornadas de detección de enfermedades no transmisibles).

Se obtendrán muestras de sangre de todos los individuos participantes después de un ayuno nocturno de al menos 8 horas. Se recogerán las muestras de sangre en tubos vacutainer previamente identificados con el código del paciente. Se utilizarán tubos recubiertos con un activador de coagulación para obtener el suero. Después de la coagulación durante 30 minutos a temperatura ambiente, el suero se obtendrá por centrifugación a 3000 g durante 5 min. Se obtendrá el paquete celular sanguíneo para la evaluación de la hemoglobina glicada (HbA1c) utilizando tubos con EDTA anhidra. Se obtendrá el plasma en tubos heparinizados. Inmediatamente después de la toma de muestras, los tubos serán centrifugados a 3000 g durante 5 min. Las muestras de suero y plasma se transferirán a microtubos de 1.5 ml estériles y serán almacenados a -80 °C para su posterior análisis.

Caracterización de exosomas y evaluación de miRNAs exosomales [Dra. Elena Aréchaga, Dra. Izlia Arroyo, Dr. Isidro X. Añorve, Dr. Carlos C. Patiño (HIMFG)]

Aislamiento de exosomas

A partir de 200 µL de suero se aislarán los exosomas utilizando el kit ExoQuick-TC Kit (System Biosciences, CA). Se evaluará la presencia de las proteínas de superficie CD9, CD63, CD81 y TSG101 características de exosomas por Western blot.

Tamaño de partícula y potencial Z

La distribución del tamaño de partícula y la carga superficial de los exosomas se medirán utilizando el instrumento de dispersión de luz dinámica (DLS) (Zetasizer Nano-ZS, Malvern Instruments Ltd., Malvern, Reino Unido). Adicional a estos análisis, la morfología de los exosomas se analizará mediante microscopía electrónica de barrido (DSM-940, Zeiss, Oberkochen, Alemania).

Interacción de los exosomas con membranas modelo de lípidos

Para estudiar la adsorción de los exosomas se realizarán ensayos de adhesión a membranas modelo en función de la fuerza iónica usando la técnica de microbalanza de cristal de cuarzo con monitoreo de disipación (QCM-D) (Q-sense E4 y cristales de cuarzo AT-cut; Biolin Scientific) y la palangana de Langmuir.

Evaluación de la expresión de miRNAs exosomales

La expresión del grupo de miRNAs asociados con T2D se hará usando el sistema *TaqMan® MicroRNA Assay*. Como control de carga se usará el RNU44 y el miR-122. El nivel de expresión relativa de los miRNAs se calculará utilizando el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$. En todos los casos se utilizarán muestras de suero de cada paciente.

Análisis de enriquecimiento funcional

Los genes de los módulos más significativos ($P < 0.05$) relacionados con los miRNAs se hará por enriquecimiento funcional por ontología de genes (GO) utilizando las bases de datos *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG), *Reactome* y *WikiPathways* a través de la aplicación *STRING enrichment* en *Cytoscape* versión 3.9.1 [23]. Si hay más de 10 anotaciones GO y enriquecimientos de vías, solo se extraerán los primeros 10 términos con una $P < 0.05$.

Identificación de genes blanco de miRNAs

Los genes blanco de los miRNAs identificados serán obtenidos con la base de datos *miR-TarBase* (<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw>) y mediante las herramientas de predicción *miRDB* (<http://mirdb.org>), *TargetScan Human 7.2* (https://www.targetscan.org/vert_80/) y

miRmap (<https://mirmap.ezlab.org>). Solo se consideraron las interacciones miRNA-gen blanco identificadas por al menos tres de los cuatro algoritmos utilizados.

Análisis estadístico.

Se utilizará el lenguaje de programación R versión 4.2.2 (*R Foundation for Statistical Computing*; <http://www.R-project.org/>) en el análisis de *DESeq*, *WGCNA*, *GO*, *KEGG*, *Reactome* y *WikiPathways*. La correlación entre dos variables continuas se medirá mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Para las comparaciones entre dos grupos, se realizará la prueba *t de Student* o la prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon. Los datos se presentarán como la media \pm 1DE y un valor de $P < 0.05$ se considerará estadísticamente significativo.

Evaluación de la microbiota intestinal (Dr. Diego A. Esquivel, Dra. Georgina Hernández) **Protocolo de recolección y procesamiento de muestras fecales.**

Muestras fecales de los grupos de intervención y control serán recolectadas en recipientes estériles. Las muestras se homogenizarán y se almacenarán a -80°C en tubos estériles con tapa de rosca de 1 ml antes de la extracción del ADN ⁶².

Análisis de metagenómica “Shotgun” de los pacientes de la cohorte de estudio

1) *Extracción de ADN y secuenciación metagenómica (WMS)*. A partir de las muestras obtenidas (heces fecales), se realizará una extracción de ADN total de las muestras a través de un kit de extracción especializado para microbiomas, y de acuerdo con las instrucciones del proveedor ⁶³. El ADN extraído y de excelente calidad se enviará a secuenciación, en el sistema NextSeq 550 System (300 ciclos, tamaño del fragmento: 2x150 bp, 130 millones de lectura por corrida aprox). 2) *Análisis bioinformáticos de la metagenómica (WMS)*. Con los datos crudos de secuenciación de metagenómica se obtendrán lecturas de alta calidad mediante el filtrado de las lecturas que contengan un 10 % o más de bases ambiguas (base N) ⁶⁴. Con esta información se realizará el proceso de generación de bins con MaxBin (binning) ⁶⁵ y armado de contigs (Bowtie) para poder ensamblar los metagenomas (MAGs) ⁶⁶, a partir de los ensamblados se realizará una anotación taxonómica con el programa Metaphlan ⁶⁷. También se realizará un estudio funcional con la herramienta DRAM, la cual

ha sido diseñada para perfilar metagenomas a partir de metabolismos conocidos y sus funciones dentro de su ecosistema ⁶⁸.

Determinación de la estructura y las interacciones presentes en el microbioma intestinal de pacientes de la cohorte.

Se realizarán los análisis de diversidad alfa y beta con los datos obtenidos de la metagenómica *shotgun* con la herramienta phyloseq ⁶⁹. De manera adicional, con esta información se realizará un estudio de redes ecológicas (mutualismo, antagonismo, etc) bajo el modelo Lokta-Volterra y la herramienta MetaMis ⁷⁰. Por último, se realizarán redes de asociación entre los parámetros bioquímicos, antropométricos y la composición de la microbiota intestinal de pacientes de la cohorte a través de la herramienta SparCC ⁷¹.

Determinación de los perfiles de concentración de SCFA en las heces fecales y en el suero sanguíneo de los pacientes de la cohorte a través de cromatografía líquida (HPLC).

En cada caso se diseñará un protocolo de extracción de SCFA (suero, heces fecales) para poder determinar el perfil de concentración de SCFA mediante cromatografía líquida acoplada a un detector de masas (HPLC-MS). Se sugiere el uso de una columna analítica de fase reversa Alltima ODS 5 μ M (250 mm \times 2,1 mm) con una temperatura de 35° y un gradiente etanol agua (95:5) y ácido clorhídrico (0.75 mM). El tiempo estimado de corrida por muestra es de 10 minutos y se necesita dejar un período de 1 min entre muestra y muestra. El detector de masas (ESI) deberá estar en modo negativo y monitoreando los iones de los SCFA en un rango de 54-90 m/z para detectar los correspondientes iones de ácido acético, propiónico y butírico ⁷².

Análisis de los genomas bacterianos (MAGs) obtenidos de la microbiota de los pacientes de la cohorte mediante el modelado de flujos metabólicos (FBA).

A partir de la información recabada de las interacciones de los microorganismos en la microbiota de pacientes con obesidad se buscarán y analizarán los genomas bacterianos MAGs (metagenome assembly genome) presentes en dichas muestras. Posteriormente con esta información se realizarán estudios de modelado de flujos metabólicos FBA con la

herramienta micom⁷³ y con especial énfasis en la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales se han reportado que tienen funciones inmuno-moduladoras de la inflamación asociada con enfermedades metabólicas⁷⁴.

Resultados esperados:

1. Identificar población de riesgo para T2D en jóvenes adultos en la UAM Unidad Cuajimalpa.
2. Caracterizar los exosomas plasmáticos y comparar sus miRNAs cargo entre individuos obesos y no obesos para identificar marcadores de riesgo a desarrollar T2D.
3. Identificar miRNAs que pueden contribuir con el desarrollo de la T2D relacionada con la obesidad a través de la comunicación órgano-órgano.
4. Determinar la composición de la microbiota intestinal en población joven propensa a T2D. Caracterizar la microbiota intestinal entre el mismo grupo de pacientes para generar nueva información sobre la patogénesis de la T2D relacionada con la obesidad.
5. Relacionar los niveles de expresión de los miRNAs exosomales y la composición de la microbiota intestinal con los parámetros bioquímicos y antropométricos de la población de estudio para identificar marcadores asociados con el riesgo de desarrollar T2D asociada con obesidad.
6. Evaluar el efecto benéfico de alimentos funcionales sobre los parámetros bioquímicos, antropométricos, moleculares circulantes y de la microbiota intestinal de la población analizada.
7. Identificar componentes de la microbiota intestinal y de los exosomas circulantes que sean blanco de alimentos funcionales. Las moléculas relacionadas con la intervención nutricional serán indicadores de un buen estado nutricional.

Formación de recursos humanos.

Estudiantes de Medicina y Nutrición de la UAM, IPN o UACM.

Estudiantes de Proyecto Terminal y Servicio Social de las Licenciaturas en Biología Molecular e Ingeniería Biológica.

Estudiantes de Maestría y Doctorado del Posgrado en Ciencias Naturales e Ingeniería y del Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud.

Productos esperados del proyecto

- a)** Bases de datos clínica y nutricional de la población atendida.
- b)** Reportes de Proyectos Terminales, Servicio Social y Tesis de Maestría y Doctorado
- c)** Artículos de investigación original relacionados con microbiota intestinal, exosomas circulantes, nutraceuticos, intervención nutricional entre otros de importancia en obesidad y diabetes.
- d)** Artículos de revisión
- e)** Congresos y resúmenes *in extenso*. Difusión de los resultados en foros especializados nacionales e internacionales
- f)** Divulgación de los resultados relacionados con microbiota intestinal, exosomas circulantes, nutraceuticos, intervención nutricional entre otros de importancia en la obesidad y diabetes. Se buscará presentar los resultados a las personas que forman la comunidad UAM Unidad Cuajimalpa y en zonas cercanas a la Unidad, sobre todo en poblaciones de adolescentes como son los y las estudiantes del nivel medio superior.
- g)** Generar y consolidar la integración multidisciplinaria y la colaboración entre el DCN y el DPT de la DCNI. Adicionalmente, establecer una red de colaboración con Instituciones de Investigación y de Educación Superior como son el Hospital Infantil de México “Federico Gómez”; El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” y la Universidad Autónoma de la Ciudad de México. La multidisciplinaria de los y las integrantes del grupo de investigación permitirá integrar y fortalecer los vínculos de colaboración entre dichos grupos con posibilidad de aplicarlos a resolución de problemas usando estrategias novedosas y de vanguardia.

Impacto esperado del proyecto (problemática nacional abordada). Problemática Nacional Abordada: Salud y bienestar: Atención de enfermedades no transmisibles (obesidad y diabetes)

De acuerdo con la *World Obesity Federation*, en el año 2019, 13% de los adultos en el mundo tenía obesidad, 39% tenía sobrepeso y cinco millones de muertes estuvieron

asociadas con la obesidad. En México, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, la tercera parte de los niños y niñas de 5 a 11 años de edad padecían de sobrepeso u obesidad, así como el 35% de las y los adolescentes mexicanos. Sin embargo, el problema es aún mayor en personas mayores de 20 años: el 73% de las mujeres y 69% de los hombres presentaban alguno de estos padecimientos. Para el año 2016, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad pasó de 71.2% en 2012 a 72.5% en los adultos de 20 años; aunque el aumento de 1.3 puntos porcentuales no fue estadísticamente significativo la prevalencia de obesidad en la población adulta se mantuvo estable, sin cambios favorables. Las prevalencias tanto de sobrepeso como de obesidad y de obesidad mórbida fueron más altas en el sexo femenino. Aunque las prevalencias combinadas de sobrepeso y obesidad no son muy diferentes en zonas urbanas (72.9%) y en rurales (71.6%), la prevalencia de sobrepeso fue 4.5 puntos porcentuales más alta en las zonas rurales, mientras que la prevalencia de obesidad fue 5.8 puntos porcentuales más alta en las zonas urbanas. El análisis de los beneficios de la intervención nutricional basada en alimentación sostenible en términos de marcadores moleculares, bioquímicos, de la microbiota intestinal y medidas antropométricas permitirá capturar la complejidad del modelo de estudio en diferentes niveles. De esta manera podremos asociar el rol del consumo de alimentos fermentados con los efectos a nivel de la composición y estructura de la microbiota intestinal y con los marcadores moleculares asociados con la obesidad y la T2D en jóvenes mexicanos universitarios.

Recursos necesarios para el proyecto:

- Financiamiento e infraestructura física y humana actual en el proyecto.

En la UAM Unidad Cuajimalpa contamos con el Servicio de Nutrición a cargo de la Lic. en Nutrición Priscilla Gándara Fernández quien será la responsable de implementar la intervención nutricional, evaluar el estado nutricional de las personas participantes y determinar el efecto de la intervención nutricional a través de los parámetros bioquímicos y antropométricos. En esta parte del estudio tendremos la asesoría de la Dra. Rubiceli Medina Aguilar de la UACM San Lorenzo Tezonco, quien trabaja con temas relacionados con genómica de la nutrición.

Se invitarán a estudiantes de Medicina o de Nutrición de la UAM, UACM o IPN para realizar servicio social en el Servicio de Nutrición. También se invitará a estudiantes de la LBM y LIB para que puedan realizar su Servicio Social o Proyecto Terminal en el Servicio de Nutrición.

En el Laboratorio de Biología Celular se llevará a cabo la investigación sobre la evaluación de los marcadores moleculares circulantes. El laboratorio cuenta con todo el equipo necesario para biología molecular como citómetro de flujo, microscopio de epifluorescencia, equipo de PCR en tiempo real, laboratorio de cultivo celular (3 campanas, 2 incubadoras, 2 microscopios invertidos, centrífugas refrigeradas y clínicas), criostato, nanodrop, cámaras de electroforesis para proteínas y ácidos nucleicos, lector de placas de 96 pozos, sonicadores, tanque de nitrógeno líquido, ultracongelador, ultracentrífugas. Esta parte del Proyecto estará a cargo de la Dra. Elena Aréchaga y el Dr. Isidro X. Pérez Añorve del DCN y en colaboración con el Dr. Carlos C. Patiño Morales del HIMFG.

El estudio de la microbiota intestinal se llevará a cabo en los Laboratorios de Biotecnología (UAMC), y el anexo de Biología Celular en el piso 2 de la unidad (B2), y estará a cargo de la Dra. María de los Dolores Reyes Duarte, del Dr. Diego A. Esquivel, y de la Dra. Elena Aréchaga en colaboración con la Dra. Georgina Hernández de la RAI-CIC-INCMNSZ.

Se invitarán a estudiantes para que realicen el Servicio Social, Proyecto Terminal o Tesis de Posgrado en esta parte del proyecto.

En el Laboratorio de Superficies del DPT y en el Laboratorio de Química, Farmacia Molecular y de Materiales del DCN se realizará la caracterización de los exosomas circulantes (potencial Z, tamaño de partícula y la interacción con membranas modelo de lípidos). Se invitarán a estudiantes para que realicen el Servicio Social, Proyecto Terminal o Tesis de Posgrado en esta parte del proyecto. Esta parte del proyecto estará a cargo de la Dra. Izlia Jazheel Arroyo Maya.

En los Laboratorios de Bioprocesos, de Biotecnología y en el Laboratorio de Proyectos demostrativos Bebidas y alimentos fermentados, se llevará a cabo la elaboración del alimento funcional fermentado (Kombucha) y su caracterización bioquímica, fisicoquímica, microbiológica y potencial probiótico. La kombucha se preparará de acuerdo con los protocolos desarrollados en el curso de "Temas selectos en Ingeniería Biológica de

Fermentaciones tradicionales” y en Proyectos terminales previos. En los laboratorios mencionados se cuenta con el instrumental y equipos necesarios para llevar a cabo el proceso de preparación y caracterización bioquímica, fisicoquímica y microbiológica del alimento (HPLC, refractómetro, buretas automáticas, equipo para ambientes estériles, incubadoras, espectrofotómetros, potenciómetros, centrífugas, entre otros). Esta parte del proceso estará a cargo de la Dra. María de los Dolores Reyes Duarte, del Maestro Miguel Sergio Hernández Jiménez y de la Dra. Teresa de Jesús García Pérez.

Se invitarán a estudiantes para que realicen el Servicio Social, Proyecto Terminal o Tesis de Posgrado en esta parte del proyecto.

- **Presupuesto calendarizado.**

El proyecto será inicialmente financiado a través del presupuesto departamental de los profesores adscritos a la UAM Unidad Cuajimalpa.

- **Fuentes de financiamiento externas.**

Se buscará financiamiento a partir de las convocatorias de CONAHCYT, Secretaría de Salud, SECTEI, UAM, entre otras relacionadas con los temas de estudio. A la fecha se han sometido dos proyectos a convocatorias de la UAM, que son parte integral de este proyecto:

1. Convocatoria para proyectos de Investigación Relacionados a Desafíos Actuales “El rol emergente de la microbiota intestinal en el diagnóstico y desarrollo de la obesidad en adultos jóvenes”. Responsable: Dra. Dolores Reyes Duarte.
2. Convocatoria para Proyectos de Colaboración Interinstitucional UAM-IPN Innova Metro-Politec “El rol emergente de un alimento funcional sobre la microbiota intestinal y la señalización celular mediada por exosomas en la obesidad y el riesgo del desarrollo de diabetes tipo 2 en adultos jóvenes universitarios en la Ciudad de México” (ALIFUMID)”. Responsable: Dra. Elena Aréchaga Ocampo.

Cronograma de las actividades en periodos trimestrales y productos esperados e información para el seguimiento del proyecto (se anexa una tabla)

Referencias

1. World Health Organization. Obesity and overweight.
2. Hanson, P., Weickert, M. O. & Barber, T. M. Obesity: novel and unusual predisposing factors. *Ther Adv Endocrinol Metab* **11**, 204201882092201 (2020).
3. McCarthy, M. I. Genomics, Type 2 Diabetes, and Obesity. *New England Journal of Medicine* **363**, 2339–2350 (2010).
4. ElSayed, N. A. *et al.* 3. Prevention or Delay of Diabetes and Associated Comorbidities: *Standards of Care in Diabetes—2024. Diabetes Care* **47**, S43–S51 (2024).
5. Pi, L., Zheng, Y., Shi, X., Wang, Z. & Zhou, Z. Using point-of-care HbA1c to facilitate the identification of diabetes and abnormal glucose regulation in primary healthcare settings. *Front Public Health* **11**, (2023).
6. Gurung, M. *et al.* Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine* **51**, 102590 (2020).
7. Hanson, P., Weickert, M. O. & Barber, T. M. Obesity: novel and unusual predisposing factors. *Ther Adv Endocrinol Metab* **11**, 204201882092201 (2020).
8. Alkhatib, A. *et al.* Functional Foods and Lifestyle Approaches for Diabetes Prevention and Management. *Nutrients* **9**, 1310 (2017).
9. Labussière, E. *et al.* *Saccharomyces cerevisiae boulardii* CNCM I-1079 supplementation in finishing male pigs helps to cope with heat stress through feeding behavior and gut microbiota modulation. *British Journal of Nutrition* **127**, 353–368 (2022).
10. Kim, E. T. *et al.* Effects of Flavonoid-rich Plant Extracts on <i>in vitroAsian-Australas J Anim Sci **28**, 530–537 (2015).
11. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *New England Journal of Medicine* **377**, 13–27 (2017).
12. Roden, M. & Shulman, G. I. The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature* **576**, 51–60 (2019).
13. Rosen, E. D. *et al.* Epigenetics and Epigenomics: Implications for Diabetes and Obesity. *Diabetes* **67**, 1923–1931 (2018).
14. Chatterjee, S., Khunti, K. & Davies, M. J. Type 2 diabetes. *The Lancet* **389**, 2239–2251 (2017).
15. Galicia-Garcia, U. *et al.* Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci* **21**, 6275 (2020).
16. Hillier, T. A. & Pedula, K. L. Complications in Young Adults With Early-Onset Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* **26**, 2999–3005 (2003).
17. Czech, M. P. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nat Med* **23**, 804–814 (2017).
18. Zheng, Y., Ley, S. H. & Hu, F. B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol* **14**, 88–98 (2018).
19. Dali-Youcef, N., Mecili, M., Ricci, R. & Andrès, E. Metabolic inflammation: Connecting obesity and insulin resistance. *Ann Med* **45**, 242–253 (2013).
20. Scarpellini, E. & Tack, J. Obesity and Metabolic Syndrome: An Inflammatory Condition. *Digestive Diseases* **30**, 148–153 (2012).

21. Czech, M. P. Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes. *Mol Metab* **34**, 27–42 (2020).
22. McCarthy, M. I. Genomics, Type 2 Diabetes, and Obesity. *New England Journal of Medicine* **363**, 2339–2350 (2010).
23. Wang, N., Zhu, F., Chen, L. & Chen, K. Proteomics, metabolomics and metagenomics for type 2 diabetes and its complications. *Life Sci* **212**, 194–202 (2018).
24. Piper, M. S. & Saad, R. J. Diabetes Mellitus and the Colon. *Curr Treat Options Gastroenterol* **15**, 460–474 (2017).
25. Du, Y. T., Rayner, C. K., Jones, K. L., Talley, N. J. & Horowitz, M. Gastrointestinal Symptoms in Diabetes: Prevalence, Assessment, Pathogenesis, and Management. *Diabetes Care* **41**, 627–637 (2018).
26. Yarandi, S. S. & Srinivasan, S. Diabetic gastrointestinal motility disorders and the role of enteric nervous system: Current status and future directions. *Neurogastroenterology & Motility* **26**, 611–624 (2014).
27. Barquilla García, A. *et al.* Recomendaciones de la Sociedad Americana de Diabetes para el manejo de la diabetes mellitus. *SEMERGEN - Medicina de Familia* **36**, 386–391 (2010).
28. World Health Organization 2023. WHO Technical Advisory Group on Diabetes. *WHO*.
29. IMSS 2018. Diagnóstico y tratamiento farmacológico de la Diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención.
30. Dungan, K. M. 1,5-anhydroglucitol (GlycoMark™) as a marker of short-term glycemic control and glycemic excursions. *Expert Rev Mol Diagn* **8**, 9–19 (2008).
31. Février, B. & Raposo, G. Exosomes: endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. *Curr Opin Cell Biol* **16**, 415–421 (2004).
32. Kalluri, R. & LeBleu, V. S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science (1979)* **367**, (2020).
33. Colombo, M., Raposo, G. & Théry, C. Biogenesis, Secretion, and Intercellular Interactions of Exosomes and Other Extracellular Vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol* **30**, 255–289 (2014).
34. Février, B. & Raposo, G. Exosomes: endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. *Curr Opin Cell Biol* **16**, 415–421 (2004).
35. Chang, W. & Wang, J. Exosomes and Their Noncoding RNA Cargo Are Emerging as New Modulators for Diabetes Mellitus. *Cells* **8**, 853 (2019).
36. Valadi, H. *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* **9**, 654–659 (2007).
37. Ying, W. *et al.* Adipose Tissue Macrophage-Derived Exosomal miRNAs Can Modulate in Vivo and in Vitro Insulin Sensitivity. *Cell* **171**, 372–384.e12 (2017).
38. Sun, Y. *et al.* The Utility of Exosomes in Diagnosis and Therapy of Diabetes Mellitus and Associated Complications. *Frontiers in Endocrinology* vol. 12 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.756581> (2021).
39. Ferrante, S. C. *et al.* Adipocyte-derived exosomal miRNAs: a novel mechanism for obesity-related disease. *Pediatr Res* **77**, 447–454 (2015).
40. Castaño, C., Kalko, S., Novials, A. & Párrizas, M. Obesity-associated exosomal miRNAs modulate glucose and lipid metabolism in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **115**, 12158–12163 (2018).

41. Shang, R., Lee, S., Senavirathne, G. & Lai, E. C. microRNAs in action: biogenesis, function and regulation. *Nat Rev Genet* (2023) doi:10.1038/s41576-023-00611-y.
42. He, X., Kuang, G., Wu, Y. & Ou, C. Emerging roles of exosomal miRNAs in diabetes mellitus. *Clin Transl Med* **11**, (2021).
43. Czech, M. P. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nat Med* **23**, 804–814 (2017).
44. Katayama, M. *et al.* Circulating Exosomal miR-20b-5p Is Elevated in Type 2 Diabetes and Could Impair Insulin Action in Human Skeletal Muscle. *Diabetes* **68**, 515–526 (2019).
45. Ying, W. *et al.* Adipose Tissue Macrophage-Derived Exosomal miRNAs Can Modulate In Vivo and In Vitro Insulin Sensitivity. *Cell* **171**, 372–384.e12 (2017).
46. Xu, S., Wang, Y., Wang, J. & Geng, W. Kombucha Reduces Hyperglycemia in Type 2 Diabetes of Mice by Regulating Gut Microbiota and Its Metabolites. *Foods* **11**, 754 (2022).
47. Salari, A. *et al.* Effect of kefir beverage consumption on glycemic control: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Complement Ther Clin Pract* **44**, 101443 (2021).
48. Hamasaki, H. Functional Foods for Type 2 Diabetes. *AIMS Med Sci* **3**, 278–297 (2016).
49. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* **486**, 207–214 (2012).
50. Ley, R. E., Peterson, D. A. & Gordon, J. I. Ecological and Evolutionary Forces Shaping Microbial Diversity in the Human Intestine. *Cell* **124**, 837–848 (2006).
51. Wang, Z. *et al.* Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* **472**, 57–63 (2011).
52. Larsen, N. *et al.* Gut Microbiota in Human Adults with Type 2 Diabetes Differs from Non-Diabetic Adults. *PLoS One* **5**, e9085 (2010).
53. Turnbaugh, P. J. *et al.* A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* **457**, 480–484 (2009).
54. Yan, Q. *et al.* Alterations of the Gut Microbiome in Hypertension. *Front Cell Infect Microbiol* **7**, (2017).
55. Capuco, A. *et al.* Current Perspectives on Gut Microbiome Dysbiosis and Depression. *Adv Ther* **37**, 1328–1346 (2020).
56. Ke, S., Weiss, S. T. & Liu, Y.-Y. Dissecting the role of the human microbiome in COVID-19 via metagenome-assembled genomes. *Nat Commun* **13**, 5235 (2022).
57. Krajmalnik-Brown, R., Lozupone, C., Kang, D.-W. & Adams, J. B. Gut bacteria in children with autism spectrum disorders: challenges and promise of studying how a complex community influences a complex disease. *Microb Ecol Health Dis* **26**, (2015).
58. Kho, Z. Y. & Lal, S. K. The Human Gut Microbiome – A Potential Controller of Wellness and Disease. *Front Microbiol* **9**, (2018).
59. Tang, W. H. W. *et al.* Intestinal Microbial Metabolism of Phosphatidylcholine and Cardiovascular Risk. *New England Journal of Medicine* **368**, 1575–1584 (2013).
60. Bai, X. *et al.* Engineering the gut microbiome. *Nature Reviews Bioengineering* **1**, 665–679 (2023).

61. García, J. , & Barrios, P. *Elaboración de Bebida Fermentada (Kombucha) Enriquecida Con Nutracéuticos (Antocianina) Con Potencial Para Reducir La Inflamación. Proyecto Terminal.* . (2023).
62. Diener, C. *et al.* Progressive Shifts in the Gut Microbiome Reflect Prediabetes and Diabetes Development in a Treatment-Naive Mexican Cohort. *Front Endocrinol (Lausanne)* **11**, (2021).
63. Vo, A. -T. E. & Jedlicka, J. A. Protocols for metagenomic <scp>DNA</scp> extraction and Illumina amplicon library preparation for faecal and swab samples. *Mol Ecol Resour* **14**, 1183–1197 (2014).
64. Quince, C., Walker, A. W., Simpson, J. T., Loman, N. J. & Segata, N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat Biotechnol* **35**, 833–844 (2017).
65. Wu, Y. & Singer, S. W. Recovering Individual Genomes from Metagenomes Using MaxBin 2.0. *Curr Protoc* **1**, (2021).
66. Langmead, B. & Salzberg, S. L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Methods* **9**, 357–359 (2012).
67. Truong, D. T. *et al.* MetaPhlAn2 for enhanced metagenomic taxonomic profiling. *Nat Methods* **12**, 902–903 (2015).
68. Shaffer, M. *et al.* DRAM for distilling microbial metabolism to automate the curation of microbiome function. *Nucleic Acids Res* **48**, 8883–8900 (2020).
69. McMurdie, P. J. & Holmes, S. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One* **8**, e61217 (2013).
70. Shaw, G. T.-W., Pao, Y.-Y. & Wang, D. MetaMIS: a metagenomic microbial interaction simulator based on microbial community profiles. *BMC Bioinformatics* **17**, 488 (2016).
71. Friedman, J. & Alm, E. J. Inferring Correlation Networks from Genomic Survey Data. *PLoS Comput Biol* **8**, e1002687 (2012).
72. van Eijk, H. M. H., Bloemen, J. G. & Dejong, C. H. C. Application of liquid chromatography–mass spectrometry to measure short chain fatty acids in blood. *Journal of Chromatography B* **877**, 719–724 (2009).
73. Diener, C., Gibbons, S. M. & Resendis-Antonio, O. MICOM: Metagenome-Scale Modeling To Infer Metabolic Interactions in the Gut Microbiota. *mSystems* **5**, (2020).
74. Bartolomaeus, H. *et al.* Short-Chain Fatty Acid Propionate Protects From Hypertensive Cardiovascular Damage. *Circulation* **139**, 1407–1421 (2019).