



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

**COMPORTAMIENTO DE CURVA DE GLUCOSA
POSTERIOR A CARGA CON ALIMENTO DE
ABSORCIÓN RÁPIDA CON BASE EN EQUIVALENTE
GLUCÉMICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE
ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA

P R E S E N T A:

DRA. BERENICE AGUIRRE GÓMEZ

TUTOR DE TESIS:
DR. RAÚL CALZADA LEÓN

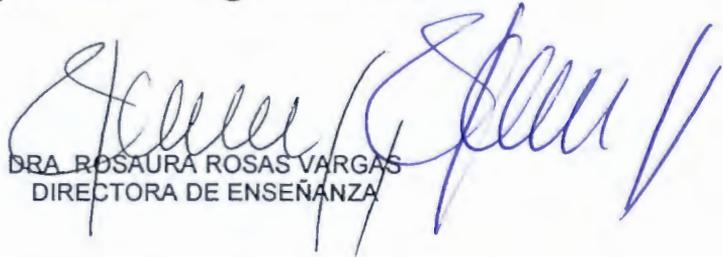


MÉXICO, D.F.

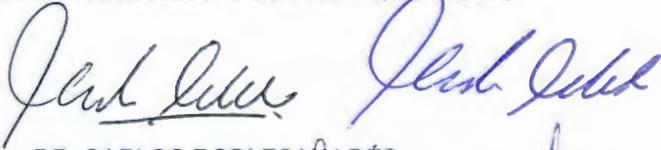
Junio

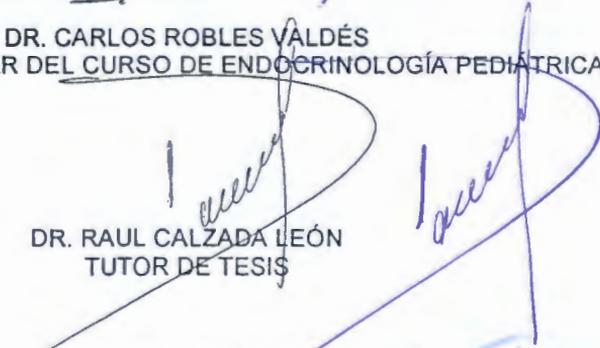
2015

“Comportamiento de curva de glucosa posterior a carga con alimento de absorción rápida con base en equivalente glucémico”


DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS
DIRECTORA DE ENSEÑANZA


DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO


DR. CARLOS ROBLES VALDÉS
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA


DR. RAUL CALZADA LEÓN
TUTOR DE TESIS


MTO. CHIHARU MURATA
ASESOR METODOLÓGICO



INDICE

1.- Agradecimientos.....	3
2.- Antecedentes.....	4
2.1 Introducción.....	4
2.2 Definición.....	4
2.3 Epidemiología.....	5
2.4 Diagnóstico.....	5
3.- Planteamiento del Problema.....	8
4.- Pregunta de Investigación.....	8
5.- Justificación.....	9
6.- Hipótesis.....	9
7.- Objetivos.....	9
7.1 Primarios.....	9
7.2 Secundarios.....	9
8.- Métodos.....	9
8.1 Tipo de estudio.....	9
8.2 Ubicación del estudio.....	9
8.3 Población.....	10
8.3.1 Población objetivo.....	10
8.3.2 Población accesible.....	10
8.4 Criterios de selección.....	10
8.4.1 Inclusión.....	10
8.4.2 Exclusión.....	10
8.4.3 Eliminación.....	10
9.- Muestreo y asignación de la muestra.....	11
10.- Tamaño de la muestra.....	11
11.- Variables.....	12
11.1 Variables demográficas.....	12
11.2 Variables somatométricas.....	12
11.3 Variables de asignación del orden de la prueba.....	12
11.4 Variables de respuesta a la prueba de tolerancia oral a la glucosa.....	12
12.- Procedimiento.....	13
13.- Análisis estadístico.....	14
14.- Consideraciones éticas.....	15
15.- Anexo 1: Variables con definición operacional.....	16
16.- Anexo 2: Carta de Consentimiento Informado.....	19
17.- Anexo 3: Carta de Asentimiento Informado.....	22
18.- Bibliografía.....	24

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme vida, esperanza, fe y siempre estar conmigo, por permitirme llegar tan lejos como me lo proponga.

A Pipu, gracias mami por ser mi guía, mi ejemplo, por todos los valores y la formación que me has dado, porque me hacen ser la mujer que soy. Gracias porque me acompañas siempre, por alentarme a ser mejor y apoyarme en todas mis decisiones. Te quiero mucho por siempre.

A mi familia, por creer en mí, por su apoyo incondicional, porque me han enseñado con el ejemplo el valor del trabajo, la constancia y la perseverancia, porque me han enseñado que mi límite soy yo misma.

Aidu, por compartir largas horas de estudio, "colega" ¡¡¡Ya nos graduamos!!! Por ser mi segunda mamá, por todos los cuidados y el cariño que siempre me das.

Naisis, por ser mi amiguita, por apoyarme y quererme tanto, por ser el motor de la familia.

Abuelito Ángel, que desde el cielo me cuidas y sé que compartes este logro conmigo.

Toño, Oscar y Omar, por ser mis hermanos, por su cariño incondicional, escuince por tantas historias y aventuras juntos.

A Joaquín, mi esposo, por ser mi motor, mi inspiración, por crecer juntos, por acompañarme y caminar junto a mí, gracias por compartir este sueño conmigo, por tu comprensión, tu ayuda y tu inmenso amor. Por pasar nuestra primera navidad de esposos de guardia en el Hospital, porque estar contigo, no importa dónde es lo mejor del mundo... Simplemente por ser el amor de mi vida.

A mis pacientes por permitirme ser parte de su vida.

A mis maestros por compartir sus conocimientos y experiencia.

A toda mi familia INP: compañeros y amigos ya que sin ellos la residencia no hubiera sido igual.

Comportamiento de curva de glucosa posterior a carga con alimento de absorción rápida con base en equivalente glucémico

ANTECEDENTES

Introducción

La Diabetes mellitus tipo 2 históricamente considerada como una enfermedad crónica solo de adultos, ahora tiene una prevalencia incrementada en niños y adolescentes. Se estima que la incidencia es de 22 casos por cada 100,000 adolescentes, o aproximadamente 3600 jóvenes diagnosticados con esta enfermedad cada año. Para evitar las complicaciones es importante establecer un diagnóstico temprano y tratamiento oportuno a estos niños y jóvenes para poder ofrecerles mejor calidad de vida. ⁽¹⁾

Definición

La Diabetes Mellitus (DM), representa un grupo de alteraciones endócrinas caracterizada por hiperglucemia debido a un defecto en la secreción de insulina, o un defecto en la acción de la misma, o ambas. Previamente solo se clasificaba en tipo 1 y tipo 2 de acuerdo a la edad de presentación y a la dependencia o no de insulina, la clasificación actual es la siguiente.⁽¹⁾

Clasificación de la DM de acuerdo a la American Diabetes Association (ADA):

DM1	Dstrucción de la célula B del páncreas que conlleva a la deficiencia total de secreción de insulina: <ul style="list-style-type: none">- 1a: mediada por inmunidad (autoanticuerpos positivos)- 1b: idiopática
DM2	Espectro clínico en donde predomina la resistencia periférica a la insulina, una relativa deficiencia de insulina o por un defecto en la secreción de la misma.
Diabetes Gestacional	Diabetes que se diagnostica durante el embarazo
Otros tipos de Diabetes	Amplio rango de diabetes de tipo específico, secundario a patologías específicas. <ul style="list-style-type: none">- Defectos génicos de la célula B- Dstrucción pancreática o defecto del

	<p>páncreas exócrino (trauma, fibrosis quística)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Endocrinopatías (Síndrome de Cushing, feocromocitoma) - Inducido por medicamentos: glucocorticoides, L-asparaginasa) - Síndromes genéticos asociados a DM (síndrome de Down, Turner, Klinefelter)
--	--

Epidemiología

Afecta al 15% de la población mundial y va en incremento. De esta proporción de la población a la Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1), le corresponde el 10%, mientras que a la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2), el 85%, el resto a los otros tipos de DM.

La incidencia de la DM2 en niños y adolescentes ha incrementado en parte por la obesidad infantil y su asociación con resistencia a la insulina.

De ser una enfermedad característica de los países desarrollados, se ha convertido en una epidemia en países en desarrollo. En México, por las complicaciones que genera (retinopatía, nefropatía, micro y macroangiopatías, etc.), está considerada como la primera causa de muerte. La Encuesta Nacional de Salud 2000, efectuada por el Instituto Nacional de Salud Pública, detectó 3.65 millones de afectados, y alrededor de 582,826 mexicanos murieron de diabetes en el periodo 1980-2000 ⁽²⁾.

Diagnóstico

La forma de diagnosticar esta enfermedad, es a través de los signos y síntomas (polidipsia, poliuria, polifagia, etc.). Sin embargo, en muchas ocasiones, la DM cursa asintomática, por lo que para confirmar o descartar la presencia de esta enfermedad, se han desarrollado pruebas del tipo estímulo - respuesta. La más conocida de estas pruebas, es la Curva de Tolerancia Oral a la Glucosa (CTOG), que al día de hoy se conoce como Prueba de Tolerancia oral a la glucosa (PTOG) debido a que no es necesario tomar mediciones intermedias. Esta es una prueba que mide la capacidad que tiene el organismo para metabolizar la glucosa, de manera que en los sujetos con alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, esta capacidad se encuentra alterada, y en el caso particular de los pacientes con diabetes, esta capacidad se encuentra disminuida ^(3,4).

Para realizar la PTOG, se necesita reunir las siguientes características:

1. Ayuno de 8 a 14 horas,
2. Evitar restricciones a la dieta durante los tres días precedentes (consumo mínimo de 150g de hidratos de carbono al día). La evidencia reciente sugiere que es conveniente consumir la noche anterior una comida con un contenido razonable e hidratos de carbono:30-50g)
3. Evitar cambios en la actividad física habitual durante los tres días precedentes.
4. Durante la prueba se debe mantener a la persona en reposo.
5. Sin enfermedades intercurrentes durante la prueba.

Realización: Se obtiene del sujeto bajo estudio, una muestra de sangre para determinar la glucemia basal, posteriormente se administra 1.75 g de glucosa por kilogramo de peso corporal, hasta un máximo de 75 g, como bolo vía oral con dextrosa al 50%. Se toma nuevamente muestra de sangre a los 120 minutos para determinar la glucemia post carga. La interpretación de dicho resultado es la siguiente: ⁽⁵⁾

Resultado	Interpretación
Glucosa en ayuno >100 mg/dl, pero <126mg/dl	Glucemia de ayuno alterada (GAA)
Glucosa a los 120 minutos (post carga de 1.75g/kg de glucosa máximo 75g) >200mg/dl	Diabetes Mellitus (DM)
Glucosa a los 120 minutos (post carga de 1.75g/kg de glucosa máximo 75g) >140mg/dl, pero <200mg/dl	Intolerancia a los hidratos de carbono (ITG)

Cuadro IV. Perspectiva histórica de los criterios diagnósticos de la DM.*

Muestreo	USPHS	Joslin	Fajans y Conn	OMS 1985	ADA
Ayuno	≥ 110	≥ 125	≥ 180	≥ 140	≥ 126
CTOG					
1 h	≥ 170	≥ 180	≥ 120	NA	NA
2 h	≥ 120	≥ 140	≥ 140	≥ 200	≥ 200

NA = No aplica

USPHS = United States Public Health Service.

* Valores plasmáticos de glucosa en mg/dL, excepto en los criterios del USPHS que utiliza valores en sangre.

Adaptado de Aguilar Salinas CR, Gómez Pérez FJ, Ruiz JA. Limitations of the diagnostic criteria for type 2 diabetes and glucose intolerance. Rev Invest Clin 2000; (52) 2: 177-84.

Actualmente, los criterios de la ADA (American Diabetes Association) para diagnóstico de DM son los siguientes: ⁽¹⁾

1. Síntomas más glucosa plasmática casual ≥ 200 mg/dL, entendiendo como casual a cualquier hora, sin considerar el tiempo transcurrido desde la última comida. Los síntomas incluyen poliuria, polidipsia y polifagia, así como pérdida de peso inexplicada.

2. Glucosa plasmática en ayuno \geq a 126 mg/dL. Se define ayuno como la ausencia de ingesta calórica por al menos 8 horas.
3. Glucosa plasmática \geq a 200 mg/dL a las 2 horas durante la curva de tolerancia oral a la glucosa. La carga de glucosa oral es de 75 g de glucosa anhidra, disuelta en agua.

Para el diagnóstico en la persona asintomática es esencial tener al menos un resultado adicional de glucemia igual o mayor a las cifras antes descritas. Si el nuevo resultado no logra confirmar la presencia de DM se necesita volver a practicar las pruebas diagnósticas periódicamente hasta que se aclare el diagnóstico definitivo ^(5,6).

La glucemia en ayuno es la prueba más sencilla para el tamizaje oportuno de DM en personas asintomáticas, sin embargo, la prueba de oro para establecer el diagnóstico de DM en estudios poblacionales sigue siendo la medición de la glucemia 2 horas post carga de glucosa (PTOG).

Factores de riesgo que hacen necesario la PTOG: ⁽⁷⁾

- Obesidad (de acuerdo a la OMS: IMC >PC 95)
- Sobrepeso (de acuerdo a la OMS: IMC >PC 85) más datos clínicos de resistencia a la insulina
- Familiares diabéticos en primer grado de consanguinidad
- Procedencia rural y urbanización reciente
- Antecedentes obstétricos: macrosómico con peso al nacer >4kg o >PC 90 de peso para edad gestacional, hijo de madre diabética
- Triglicéridos elevados (>PC 90 para la edad)

LA OMS y la IDF recomiendan que a toda persona con GAA se le practique una PTOG para establecer si ya tiene ITG o incluso Diabetes, debido a que las personas que cursan con ITG probablemente se encuentren en una etapa más avanzada de prediabetes y tienen mayor riesgo cardiovascular (la glucemia post carga de glucosa es un mejor predictor del riesgo cardiovascular en estados prediabéticos) y constituyen un grupo en el que se puede prevenir o retardar la aparición de diabetes con base en la evidencia de ensayos clínicos aleatorizados.

La glucemia de ayuno alterada (GAA), la ITG (intolerancia a hidratos de carbono) y la Diabetes Mellitus (DM) forman parte del síndrome metabólico y la presencia de diabetes incrementa significativamente el riesgo cardiovascular de estas personas ^(5,8)

La realización de PTOG en niños ha sido un reto a través de los años, debido a que el sabor de la glucosa anhidra es desagradable, les provoca náuseas, dolor abdominal y en ocasiones vómito, lo que ocasiona suspensión de la prueba y retraso en el diagnóstico. Se ha reportado hasta 30% de suspensión de las pruebas por estos motivos en instituciones con servicio de endocrinología pediátrica y en instituciones donde se realizan pruebas de laboratorio. ^(5, 6,9)

De acuerdo a la Federación Mexicana de Diabetes, el índice glucémico se refiere a la capacidad que tienen los alimentos de elevar la glucosa en sangre. Y el sistema mexicano de alimentos equivalentes se refiere a la porción o ración de un alimento cuyo aporte nutrimental es similar a otro en calidad y cantidad, lo que permite que puedan ser intercambiables entre sí.

La fructosa se incorpora al metabolismo de los glúcidos en diferentes niveles de la glucólisis. En primer lugar sufre una fosforilación por medio de la acción de la fructoquinasa y se transforma en fructosa-1-fosfato, que posteriormente se hidroliza a través de una aldolasa apareciendo el gliceraldehído y la dihidroxiacetona fosfato, ésta junto con el gliceraldehído 3-fosfato que proviene de la transformación por acción de la gliceroquinasa del gliceraldehído, son los productos intermediarios de la glucólisis. Aunque la fructosa se incorpora a la metabolización de la glucosa, presenta una velocidad de absorción 40% inferior a la de la glucosa.^(10,11,12)

De las bebidas azucaradas disponibles para consumo habitual y de fácil acceso para la población, en México, el jugo comercial es la mejor opción para realizar una PTOG con equivalente glucémico correspondiente a glucosa anhidra, debido a que en menor cantidad existe mayor concentración de hidratos de carbono. Se descarta la posibilidad de realizarlo con jugo de fruta natural, ya que la fructosa se absorbe de manera diferente a la glucosa en el organismo y la cantidad de ésta depende del grado de madurez de la fruta.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La carga para realizar la PTOG (Prueba de tolerancia oral a la glucosa) se realiza con glucosa anhidra (Solución Glucosada al 50%) que por su alta concentración tiene un sabor desagradable, por lo cual es poco tolerado y aceptado por la población infantil, lo que puede ocasionar náuseas y vómito, causando la suspensión de la prueba hasta en un 30%, reprogramación de la misma y retraso en el diagnóstico. Existen alimentos de absorción rápida de sabor agradable de los cuales conocemos su equivalente glucémico pero no conocemos su comportamiento metabólico y si éste es similar al observado con la solución glucosada al 50%.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

- 1.- ¿Cómo es el comportamiento de la curva de glucosa e insulina observada posterior a carga con alimento de absorción rápida (jugo de piña marca Jumex) y posterior a carga con solución glucosada al 50%, en un mismo individuo, a dosis de 1.75g/kg?
- 2.- ¿El comportamiento metabólico posterior a la carga con alimento de absorción rápida es similar a lo observado con la solución glucosada al 50%?
- 3.- ¿Cuál es la aceptación y tolerancia ante este alimento de absorción rápida en la población pediátrica estudiada?

JUSTIFICACIÓN

Observar si el comportamiento de glucosa e insulina posterior a carga con alimento de absorción rápida es similar al observado posterior a carga con solución glucosada al 50%, pero con mejor sabor y que tenga mayor tolerancia y aceptación por la población infantil, lo que reduciría los eventos adversos como náuseas y vómito ocasionados por el mal sabor de la solución glucosada al 50%.

HIPÓTESIS

- 1.- El comportamiento de la curva de glucosa e insulina posterior a la carga con alimento de absorción rápida es similar al observado posterior a carga con solución glucosada a los 50%, administrados a la misma dosis de 1.75g/kg
- 2.- La aceptación y tolerancia de la carga con alimento de absorción rápida es mejor a la presentada posterior a la carga con solución glucosada al 50%.

OBJETIVOS

Primarios

- Construir la curva de comportamiento de glucosa con la medición basal así como a los 30, 60, 90 y 120 minutos posteriores a carga con alimento de absorción rápida.
- Comparar este comportamiento con el observado con solución glucosada al 50%.

Secundarios

- Comparar el grado de aceptación y tolerancia entre el alimento de absorción rápida y la solución glucosada al 50%.
- Establecer el grado de sensibilidad a la insulina mediante la determinación de insulina plasmática utilizando la misma muestra sanguínea para calcular el índice de HOMA basal y 2hrs posterior a la carga con jugo y con solución glucosada al 50%.

MÉTODOS

Tipo de estudio

Estudio cuasi-experimental, analítico, longitudinal, prospectivo.

Ubicación del estudio

Servicio de Endocrinología del Instituto Nacional de Pediatría de mayo a diciembre del 2015

Población

Población objetivo

Niños con factores de riesgo para desarrollar intolerancia a hidratos de carbono o Diabetes Mellitus

Población accesible

Pacientes con la característica mencionada, atendidos de mayo a diciembre del 2015 en el servicio de endocrinología del Instituto Nacional de Pediatría.

Criterios de selección

Inclusión:

- Edad de 2 a 17 años 11 meses
- Sexo: Masculino o femenino
- Pacientes atendidos en el servicio de endocrinología del INP
- Pacientes con glucosa de ayuno alterada ($>100\text{mg/dl}$)
- Pacientes con sobrepeso ($\text{PC} \geq 85$ de IMC) y datos clínicos de resistencia a la insulina (acantosis nigricans, hiperqueratosis)
- Pacientes obesos ($\text{PC} \geq 95$ de IMC) con o sin datos clínicos de resistencia a la insulina
- Pacientes con antecedentes familiares de primer grado (padres, hermanos) con diabetes mellitus
- Triglicéridos elevados ($\text{PC} \geq 90$ para la edad)
- Hijos de madres diabéticas
- Peso al nacimiento mayor a $\text{PC} 90$ para la edad gestacional

Exclusión:

- Pacientes recibiendo esteroide por enfermedad concomitante
- Pacientes hospitalizados
- Pacientes con compromiso hemodinámico
- Pacientes que reciben tratamiento con hipoglucemiante oral (tipo biguanidas)
- Pacientes que reciben tratamiento con insulina
- Pacientes con diagnóstico previamente corroborado de diabetes mellitus

Eliminación:

- Pacientes a quienes se tiene que reprogramar prueba por presentar vómito y en esa segunda ocasión también presentan vómito.
- Pacientes de los que no se puede tener todas las muestras sanguíneas para reconstruir la curva.

Muestreo y asignación aleatoria del orden de aplicación de sustrato (SG50% vs jugo piña comercial)

Se incluirán al estudio los pacientes que satisfagan los criterios de selección de acuerdo al orden de llegada al servicio de endocrinología de mayo a diciembre del 2015 hasta completar el tamaño de la muestra planeado, formando una muestra por conveniencia. El orden de administrar jugo comercial de piña (JP) o solución glucosada al 50% (SG) en cada paciente se establecerá de forma aleatorizada, de acuerdo a la tabla de asignación aleatoria del sustrato elaborada de la siguiente manera:

- 1.- En la hoja de datos electrónica del programa JMP se genera un número suficientemente grande, digamos $n=500$, de renglones.
- 2.- Se abre una columna en donde se colocan en los primeros 250 renglones, etiquetas que corresponden al orden de primero solución glucosada y segundo jugo de piña (SG-JP) y en los siguientes 250 renglones otras etiquetas que corresponden al orden inverso (JP-SG).
- 3.- Se abre una nueva columna al lado de columna de etiquetas generando en ella valor aleatorio que siga una distribución uniforme de valores continuos entre 0 y 1.
- 4.- Se reordenan las dos columnas juntas de acuerdo con el valor aleatorio generado en orden ascendente.
- 5.- Así se obtiene el orden aleatorio de la aplicación de sustratos de SG-JP y JP-SG y con forme llegan los pacientes se aplica desde el orden determinado en el renglón 1 y así sucesivamente.

Tamaño de la muestra

Se calculó el tamaño de la muestra para el objetivo primario. Nuestra hipótesis es que con la carga de glucosa de jugo se observa un valor no inferior al de la solución glucosada, por lo que se empleó la siguiente fórmula la cual permite calcular el tamaño de muestra para un estudio de no-inferioridad del diseño de brazos cruzados: ⁽¹³⁾

$$n = \frac{2\sigma^2(Z_{1-\beta} + Z_{1-\alpha})^2}{(\pi_A - \pi_B - d)^2}$$

Donde:

n: Tamaño de muestra total

σ : Desviación estándar esperada

$Z_{1-\beta}$: Valor de Z para la probabilidad del error tipo II establecido

$Z_{1-\alpha}$: Valor de Z para la probabilidad del error tipo I establecido

π_A : Media esperada para el tratamiento de interés

π_B : Media esperada para el tratamiento de referencia

d: Diferencia que se considera tener poca importancia clínica

De acuerdo con el valor reportado en Kempf K et al. ⁽¹⁴⁾, estimamos la desviación estándar en los pacientes prediabéticos como 27.6 mg/dL, y consideramos la diferencia que corresponde a menor de 20% de esta desviación estándar como una diferencia de poca importancia clínica. Esperamos que no haya diferencia en los niveles de glucosa plasmática posterior a la administración de solución glucosada y de jugo, por lo que $\pi_A - \pi_B$ sea 0. Al establecer β y α como 0.2 y 0.05, respectivamente, se obtiene el siguiente tamaño de muestra calculado:

$$n = \frac{2 \times 27.6^2 \times (0.84 + 1.64)^2}{5.52^2} = 312.5 \approx 313$$

En el periodo correspondiente al presente protocolo, se espera obtener 39 pacientes por mes y se reportará el resultado preliminar al cierre de la inclusión de los pacientes a tres meses de iniciado el protocolo.

VARIABLES (Ver detalles en Anexo 1)

Las principales variables analizadas en este estudio son:

Variables demográficas:

- *Edad*: cuantitativa continua [meses]
- *Sexo*: cualitativa nominal dicotómica [femenino; masculino]

Variables somatométricas:

- *Peso*: cuantitativa continua [kg]
- *Talla*: cuantitativa continua [cm]
- *Índice de Masa Corporal*: cuantitativa continua [kg/m²]

Variables de asignación del orden de la prueba:

- *Orden de la prueba*: cualitativa nominal dicotómica [Jugo-SG 50%; SG50%-Jugo]

Variables de respuesta a la prueba de tolerancia oral a la glucosa:

- *Niveles de glucosa basales*: cuantitativa continua [mg/dl]
- *Niveles de insulina basales*: cuantitativa continua [mUI/dl]
- *Niveles de insulina 2 horas posterior a carga glucosa*: cuantitativa continua [mUI/dl]
- *Niveles de glucosa 2 horas posterior a carga glucosa*: cuantitativa continua [mg/dl]
- *Nivel de glucosa capilar a los 30min posterior a carga glucosa*: cuantitativa continua [mg/dl]

- *Nivel de glucosa capilar a los 60min posterior a carga glucosa:* cuantitativa continua [mg/dl]
- *Nivel de glucosa capilar a los 90min posterior a carga glucosa:* cuantitativa continua [mg/dl]
- *Resistencia a la insulina con índice de HOMA:* Cualitativa ordinal [normal/resistencia a la insulina]
- *Diagnóstico final posterior a PTOG:* Cualitativa ordinal [diabetes/intolerancia a hidratos de carbono/normal]

Procedimiento

En el presente estudio se aplican dos pruebas de tolerancia oral a la glucosa, una con jugo comercial y la otra con solución glucosada al 50%.

A los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión para el estudio, se realizarán dos pruebas de tolerancia oral a la glucosa, previa firma de consentimiento informado. Las dos tienen el mismo procedimiento, excepto por el jugo o solución glucosada al 50% que se administrará al paciente.

La primera prueba se llevará a cabo al momento de incluir al paciente en el protocolo, las condiciones previas a la prueba son las siguientes:

1. Ayuno de 8 a 14 horas,
2. Evitar restricciones a la dieta durante los tres días precedentes (consumo mínimo de 150g de hidratos de carbono al día).
3. Evitar cambios en la actividad física habitual durante los tres días precedentes.
4. Durante la prueba se debe mantener a la persona en reposo.
5. Sin enfermedades intercurrentes durante la prueba.

Realización: Se obtiene del paciente, una muestra de sangre de una vena periférica, para determinar la glucemia e insulina basal, posteriormente se administra 1.75 g de glucosa por kilogramo de peso corporal, hasta un máximo de 75 g, como carga vía oral con jugo de marca registrada o con solución glucosada al 50% (a todos los pacientes se les realizará con los dos sustratos, solo varía el orden, de acuerdo a la tabla de aleatorización). Se realizará medición de glucosa capilar a los 30min, 60min y 90min y posteriormente se tomará nuevamente muestra de sangre periférica a los 120 minutos para determinar la glucemia post carga y niveles de insulina.

La segunda prueba se realiza con no más de 30 días de diferencia, idealmente 7 días posteriores a la primera.

En caso de vómito, se cancelará la prueba y se podrá reprogramar una vez más. Si en esta segunda prueba presenta nuevamente vómito, se eliminará del estudio.

Se utilizará la siguiente escala análoga visual para establecer el agrado de las dos bebidas proporcionadas a cada paciente:



Cegamiento del estudio: Los participantes de laboratorio químico y de hormonas no conocerán cuál fue el sustrato de la prueba (jugo o SG 50%)

Análisis Estadístico:

La comparación entre dos mediciones de glucosa plasmática en el mismo paciente se determina por la prueba de t pareado. Consideramos la diferencia clínicamente no significativa, si las medias de las dos mediciones presenta la diferencia <20% de la desviación estándar observada (desviación estándar común en dos mediciones, calculada por la raíz cuadrada del promedio de las dos varianzas). El nivel de glucosa plasmática se reportará por la media y desviación estándar a 30 minutos, 1 hora y dos horas posteriores a la aplicación de la carga de glucosa, además de la medición basal en los dos tipos de líquidos. El agrado de la bebida medido con escala análoga visual, la frecuencia de náuseas y vómito, y los valores de índice de HOMA se compararán por la prueba de rango con signos de Wilcoxon. Para todas las pruebas estadísticas la significancia estadística se reconocerá al nivel de $\alpha < 0.05$, y el poder estadístico se establece al nivel de $1 - \beta > 0.8$. Todos los análisis estadísticos se realizarán por medio del paquete estadístico JMP11 de SAS Institute, Inc.

Consideraciones Éticas:

El protocolo se realizará con estricto apego al código ético establecido dentro del Instituto y de acuerdo a las guías de buenas prácticas clínicas y de laboratorio internacionales, establecidas por la FDA y la Regulación de Salud en México. Se someterá a su evaluación a la Comisión de Investigación y al Comité de Ética institucionales.

Los pacientes no se verán sometidos a ningún riesgo mayor durante el procedimiento, así como tampoco los investigadores asociados, ni el personal de laboratorio que procese las muestras. La clasificación de riesgo de este estudio de acuerdo con el reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud, es riesgo mínimo.

Los riesgos menores son: náuseas y vómito con la toma de glucosa anhidra por el sabor desagradable, y probable desarrollo de equimosis por la toma de productos de laboratorio.

Es un procedimiento que se realiza de forma rutinaria en el servicio de endocrinología del INP, y el desarrollo de este protocolo de investigación no confiere riesgo adicional a los pacientes.

Todo lo relacionado con el desarrollo del protocolo, se proporcionará de manera verbal y escrita mediante la carta de consentimiento informado (Anexo 2) y asentimiento informado que será requisito en los pacientes mayores de 12 años de edad (Anexo 3), además se aclararán todas las dudas que puedan resultar de la información otorgada para el desarrollo del estudio. Se ampliará la información referente a la permanente vigilancia por parte de personal médico del Servicio de Endocrinología.

Cabe mencionar que en todo momento el paciente que acepte participar en el estudio estará acompañado de personal médico y paramédico, así como de ser posible del familiar que lo acompañe al Instituto.

Además los pacientes tienen todo el derecho de abandonar el estudio cuando así lo consideren, sin que esto tenga alguna repercusión en la atención que recibe en el Instituto.

ANEXO 1: LISTA DE VARIABLES CON DEFINICIÓN OPERACIONAL

Nombre Variable	Tipo Variable	Unidad de medición o categoría	Definición operacional
Número de expediente clínico	Cualitativa Nominal abierta	Una numeración única para cada paciente	El número de expediente clínico con el cual se identifica a cada paciente. Se toma de la portada del mismo
El orden de la prueba asignada	Cualitativa nominal	Jugo-SG 50%; SG50%-Jugo	Jugo-SG 50%: Se realiza la prueba de tolerancia oral a la glucosa primeramente con Jugo procesado comercial y posteriormente con SG 50% SG 50%-Jugo: Se realiza la prueba de tolerancia oral a la glucosa primeramente con SG 50% y posteriormente con jugo procesado comercial
Sexo	Cualitativa nominal	Femenino Masculino	Sexo establecido en la historia clínica del paciente
Edad	Cuantitativa continua	Años	2-17 años 11 meses
Peso	Cuantitativa continua	Kg	Peso obtenido en el consultorio de antropometría de endocrinología pediátrica del INP
Talla	Cuantitativa continua	Centímetros	Talla obtenida en el consultorio de antropometría de endocrinología pediátrica del INP
IMC	Cuantitativa continua	kg/m ²	IMC= Peso (kg) x Talla ² (m)
Agrupación de pacientes de acuerdo con centílas del IMC	Cualitativa ordinal	1: normal; 2: sobrepeso; 3: obesidad	Se clasificará en: Normal (<75); Sobrepeso (75-85); Obesidad (>85) de acuerdo a la centíla poblacional en gráficas de la CDC para IMC
Diagnóstico final posterior a PTOG con glucosa anhidra	Cualitativa ordinal	1: Normal; 2: Intolerante a los carbohidratos; 3: diabético	Diabético: glucosa en ayuno >126, glucosa al azar >200, CTOG >200 diagnosticado previo al estudio actual Normoglicémico: glucosa en ayuno <100, glucosa al azar <140, CTOG <140 previo al estudio actual Intolerante a los Carbohidratos: glucosa en ayuno >100 <126, CTOG >140 <200, glucosa al azar >140 <200 con cifras previo al estudio actual
Diagnóstico final posterior a la PTOG con equivalente glucémico	Cualitativa Ordinal	1: Normal; 2: Intolerante a los carbohidratos; 3: diabético	Se clasificará de acuerdo al resultado en: Diabético: glucosa >200 Normoglicémico: glucosa <140 Intolerante a los Carbohidratos: glucosa >140 <200
Resistencia a la insulina	Cualitativa ordinal	1: normal; 2: resistencia a la insulina	Se clasificará de acuerdo al índice de HOMA= Insulina (mUI/ml) x Glucemia (mg/dl)/405 Normal (índice de HOMA <3.8) Resistencia a la insulina (índice de HOMA >3.8)
Niveles de insulina basales (previo glucosa anhidra)	Cuantitativa continua	mUI/ml	Valores de insulina reportados en el laboratorio del INP, integrado en el expediente clínico del paciente, antes de la ingesta de 75g de glucosa. Paciente en ayuno.
Niveles de insulina basales (previo jugo)	Cuantitativa continua	mUI/ml	Valores de insulina reportados en el laboratorio del INP, integrado en el expediente clínico del paciente, antes de la ingesta de 75g de glucosa. Paciente en ayuno.
Niveles de insulina	Cuantitativa continua	mUI/ml	Valores de insulina reportados en el laboratorio del INP, integrado en el expediente clínico del paciente, posterior a 120 minutos de la ingesta de 75g de

120min posterior a ingesta de glucosa anhidra			glucosa anhidra
Niveles de insulina 120min posterior a ingesta de jugo	Cuantitativa continua	mUI/ml	Valores de insulina reportados en el laboratorio del INP, integrado en el expediente clínico del paciente, posterior a 120 minutos de la ingesta de 75g de glucosa en jugo procesado
Niveles de glucosa basales (previo glucosa anhidra)	Cuantitativa continua	Mg/dl	Valores de glucosa reportados en el laboratorio del INP, integrado en el expediente clínico del paciente, antes de la ingesta de 75g de glucosa Paciente en ayuno.
Niveles de glucosa capilar 30min posterior a ingesta de glucosa anhidra	Cuantitativa continua	Mg/dl	Valores de glucosa capilar tomados con glucómetro calibrado del servicio de endocrinología del INP, integrado a la hoja de recolección de datos del paciente 30min posteriores a la ingesta de 1.75g/kg de glucosa.
Niveles de glucosa capilar 60min posterior a ingesta de glucosa anhidra	Cuantitativa continua	Mg/dl	Valores de glucosa capilar tomados con glucómetro calibrado del servicio de endocrinología del INP, integrado a la hoja de recolección de datos del paciente 60min posteriores a la ingesta de 1.75g/kg de glucosa.
Niveles de glucosa capilar 90min posterior a ingesta de glucosa anhidra	Cuantitativa continua	Mg/dl	Valores de glucosa capilar tomados con glucómetro calibrado del servicio de endocrinología del INP, integrado a la hoja de recolección de datos del paciente 90min posteriores a la ingesta de 1.75g/kg de glucosa.
Niveles de glucosa 120min posterior a ingesta de glucosa anhidra	Cuantitativa continua	Mg/dl	Valores de glucosa reportados en el laboratorio del INP, integrado en el expediente clínico del paciente, posterior a 120 minutos de la ingesta de 75g de glucosa anhidra.
Niveles de glucosa basales (previo jugo)	Cuantitativa continua	Mg/dl	Valores de glucosa reportados en el laboratorio del INP, integrado en el expediente clínico del paciente, antes de la ingesta de 1.75g/kg de glucosa Paciente en ayuno.
Niveles de glucosa capilar 30min posterior a ingesta de jugo	Cuantitativa continua	Mg/dl	Valores de glucosa capilar tomados con glucómetro calibrado del servicio de endocrinología del INP, integrado a la hoja de recolección de datos del paciente 30min posteriores a la ingesta de 1.75g/kg de glucosa.
Niveles de glucosa	Cuantitativa continua	Mg/dl	Valores de glucosa capilar tomados con glucómetro calibrado del servicio de endocrinología del INP, integrado a la hoja de recolección de datos del paciente

capilar 60min posterior a ingesta de jugo			60min posteriores a la ingesta de 1.75g/kg de glucosa.
Niveles de glucosa capilar 90min posterior a ingesta de jugo	Cuantitativa continua	Mg/dl	Valores de glucosa capilar tomados con glucómetro calibrado del servicio de endocrinología del INP, integrado a la hoja de recolección de datos del paciente 90min posteriores a la ingesta de 1.75g/kg de glucosa.
Niveles de glucosa 120min posterior a ingesta de jugo	Cuantitativa continua	Mg/dl	Valores de glucosa reportados en el laboratorio del INP, integrado en el expediente clínico del paciente, posterior a 120 minutos de la ingesta de 75g de glucosa en jugo procesado

ANEXO 2: CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (para los padres o tutores de los pacientes que son candidatos a entrar al protocolo)



INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN EL PROTOCOLO DE ESTUDIO: Comportamiento de curva de glucosa posterior a carga con alimento de absorción rápida con base en equivalente glucémico

Se le invita a usted (a su hijo) a participar en un estudio de investigación. Es necesario que usted (su hijo) decida si participará o no en el estudio. Lea cuidadosamente este formato y pregunte al médico del estudio cualquier duda al respecto.

¿Para qué se hace este estudio?

Para conocer si al tomar jugo de piña comercial el cuerpo responde de forma similar a la bebida azucarada que se usa normalmente para hacer el diagnóstico de diabetes (azúcar alta en la sangre) o prediabetes (si está a punto de ser diabético). Esta bebida usada normalmente es tan azucarada que por su mal sabor, en los niños puede causar náuseas y vómito ocasionando que se cancele la prueba y no se llegue al diagnóstico. Como una alternativa, nosotros consideramos que se puede utilizar jugo de piña comercial. Sin embargo, no conocemos el efecto que ocasione en el cuerpo, por lo cual realizamos este protocolo de investigación al mismo tiempo que se le realiza la prueba diagnóstica a su hijo con bebida azucarada para observar si el jugo tiene una respuesta cercana a la que causa esta solución azucarada en el metabolismo del azúcar y en un futuro puedan realizarse otros estudios para poder sustituirla.

¿En qué consiste el estudio?

En dos pruebas, una con solución azucarada y otra con jugo de piña comercial. Con la prueba de solución azucarada evaluaremos la respuesta de azúcar en la sangre y con la de jugo observaremos si el cuerpo responde de manera similar a la primera.

¿Quiénes pueden participar en el estudio?

Los niños que tengan: obesidad, o sobrepeso con el cuello más morenito, con familiares (papá, mamá o hermanos) con diabetes mellitus, o que hayan tenido un peso muy alto al nacer.

¿Quiénes no deben participar en el estudio?

Pacientes que tomen prednisona o medicinas parecidas a esta, metformina, que ya hayan sido diagnosticados con diabetes mellitus, en tratamiento con insulina, hospitalizados o con enfermedades muy graves.

¿Qué se me pedirá (se le pedirá a su hijo) que haga?

Acudir al INP al servicio de endocrinología a las 8:00 sin haber comido en las últimas 8 a 14hrs. Se le tomará una muestra de sangre inicial de una vena, se le dará a beber una sustancia ya sea azucarada o con jugo y a los 30min, 60min y 90min se tomará una glucosa capilar (piquetito en el dedo) y finalmente a las 2hrs se le tomará nuevamente una muestra de sangre de una vena. El procedimiento se realizará en dos ocasiones, en dos visitas diferentes con no más de un mes de diferencia entre una y otra ya que una prueba se le realizará con solución azucarada y la otra se le dará de beber jugo.

¿Quién pagará los gastos del estudio?

El costo del material de laboratorio, procesamiento de las muestras de laboratorio y la solución azucarada que se utilizará en una de las dos pruebas lo cubrirá el Instituto Nacional de Pediatría, el costo del jugo para la otra prueba lo cubrirá el investigador, en este caso, la Dra. Berenice Aguirre Gómez.

¿Qué efectos indeseables pueden pasarme (pasar a su hijo) al participar en el estudio?

Durante la prueba en la que se dará a beber solución azucarada su hijo puede sentir un sabor desagradable, náuseas y eventualmente vómito. Como parte de la toma de sangre puede tener dolor al piquetito y coloración morada de la piel al final de la toma. En pacientes que sienten mucho miedo a la toma de sangre, hay riesgo de presentar baja presión sanguínea y desmayo.

¿Qué debo hacer en caso de que tenga (tenga mi hijo) alguna molestia?

Acudir al Instituto Nacional de Pediatría, al servicio de urgencias, siempre hay un endocrinólogo de guardia las 24hrs, los 365 días del año, o puede llamar a la Dra. Berenice Aguirre Gómez, teléfono 50086002

¿Qué beneficio puedo (mi hijo puede) esperar?

Se podrá diagnosticar si su hijo tiene prediabetes para darle el tratamiento adecuado y prevenir el desarrollo de Diabetes Mellitus o bien diagnosticar Diabetes Mellitus y ser atendido en la consulta externa de endocrinología para brindarle el tratamiento más apropiado.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas?

La investigadora directa es la Dra. Berenice Aguirre Gómez, teléfono 10840900 ext 1330 o 50086002 y Dra. Matilde Ruiz García Presidente del Comité de Ética Teléfono 10840900 ext. 1581 en caso de que tenga dudas sobre los derechos del participante.

¿Puedo negarme (mi hijo puede negarse) a participar en este estudio y se me puede pedir (pedirle a mi hijo) que abandone el estudio?

Sí. La participación es voluntaria, puede negarse a participar desde un inicio o en el momento en que lo desee y esto no le condicionará perder ninguno de los derechos que actualmente tiene como paciente del Instituto y de la atención de sus médicos. El médico encargado del estudio puede retirar a usted (a su hijo) del estudio en caso de que se necesite otro tratamiento debido a su enfermedad o que no acuda regularmente a sus citas o que presente vómito en dos ocasiones distintas con la administración de solución azucarada. Si su hijo presenta vómito se suspende la prueba y se reprograma (solo 2 veces).

¿Quiénes van a tener información de mis datos (de mi hijo)?

Solo los investigadores (Dra. Berenice Aguirre Gómez, Dr. Raúl Calzada León, Mto Chiharu Murata). Los datos personales de su hijo se guardarán en el expediente clínico del INP, que es un documento oficial y confidencial.

¿Qué se va a hacer con las muestras sanguíneas?

Una vez extraída la sangre, se identifica con una etiqueta que lleva nombre y número de registro de su hijo y es llevada de inmediato al laboratorio para ser procesada y posteriormente se desecha.

¿Puedo conocer los resultados del estudio?

Sí. Se le darán los resultados de las pruebas para que conozca el estado de salud de su hijo y se proponga el seguimiento necesario.

He leído y entiendo el presente consentimiento. Mis preguntas han sido contestadas y acepto participar (que mi hijo participe) en este estudio.

Nombre del niño	Fecha
Nombre y firma del Padre, o Tutor	
Nombre y firma de la Madre o tutor	
Nombre y firma de la persona que conduce la revisión del Consentimiento	Fecha
Nombre y firma de Testigo (Es conveniente que anote su dirección)	Fecha
Relación que tiene con el voluntario	
Nombre y firma de Testigo (Es conveniente que anote su dirección)	Fecha
Relación que tiene con el voluntario	
Recibí copia de este consentimiento	
Nombre y firma	Fecha



INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

ASENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN EL PROTOCOLO DE ESTUDIO: Comportamiento de curva de glucosa posterior a carga con alimento de absorción rápida con base en equivalente glucémico

Se te invita a participar en un estudio de investigación. Es importante que tú también decidas si participarás o no en el estudio. Lee cuidadosamente este formato y pregunta al médico del estudio cualquier duda al respecto.

¿Para qué se hace este estudio?

Para conocer si al tomar jugo de piña comercial tu cuerpo responde de forma parecida a la bebida azucarada que se usa normalmente para hacer el diagnóstico de diabetes que es una enfermedad en la que tienes azúcar alta en la sangre o si estás a punto de tenerla. Esta bebida usada normalmente es tan azucarada que sabe feo y en algunos niños puede causar ganas de vomitar y vómito. Como una opción, nosotros pensamos que se puede usar jugo de piña comercial, pero no conocemos el efecto que tenga en tu cuerpo, por lo cual te vamos a hacer también la prueba con bebida azucarada y observaremos si el jugo tiene una respuesta parecida a la que causa esta solución azucarada en tus niveles de azúcar en la sangre.

¿En qué consiste el estudio?

En hacerte dos pruebas, en una te daremos a tomar una bebida muy azucarada y en la otra, jugo de piña comercial. Con la prueba de bebida azucarada veremos la respuesta de azúcar en la sangre y con la de jugo observaremos si el cuerpo responde de manera parecida.

¿Qué tienes que hacer si decides participar en el estudio?

Llegar al INP al servicio de endocrinología a las 8:00 sin haber comido las últimas 8 a 14hrs, y tres días antes de la prueba comer lo que siempre acostumbras, hacer el mismo ejercicio si lo realizas, es decir, realizar tu vida como siempre acostumbras. Se te tomará una muestra de sangre de una venita del brazo o la mano, se te dará a beber una sustancia ya sea azucarada o jugo de piña y a los 30 min, 60min y 90min te daremos un piquetito muy pequeño en uno de tus dedos, luego a las 2hrs se te tomará nuevamente una muestra de sangre de una venita del brazo o mano. Este procedimiento se te hará dos veces, en días diferentes ya que una prueba se te realizará con solución azucarada y la otra se te dará de beber jugo.

¿Qué beneficio puedes esperar?

Se podrá diagnosticar a tiempo si tienes azúcar alta en la sangre para darte el tratamiento que necesitas y tengas una buena vida como otros niños de tu edad.

¿Puedes negarte a participar en este estudio?

Claro, puedes negarte a participar desde un inicio o en el momento en que tú quieras y vas a poder seguir viniendo a tus consultas al INP, nadie se va a enojar contigo.

¿Quién va a pagar por este estudio?

No te preocupes, ni tú ni tus papás van a pagar. Lo pagará el INP y la Dra. Berenice Aguirre Gómez

¿A quién puedes preguntar si tienes más dudas?

A la Dra. Berenice Aguirre Gómez, teléfono 10840900 ext 1330 o 50086002 y Dra. Matilde Ruiz García Presidente del Comité de Ética Teléfono 10840900 ext. 1581 en caso de que tenga dudas sobre tus derechos.

He leído y entiendo el presente asentimiento. Mis preguntas han sido contestadas y acepto participar en este estudio.

Nombre del niño	Fecha
-----------------	-------

Nombre y firma de Testigo	Fecha
---------------------------	-------

Relación con el niño y dirección (no padres ni investigadores)	
--	--

Nombre y firma de Testigo	Fecha
---------------------------	-------

Relación con el niño y dirección (no padres ni investigadores)	
--	--

Nombre y firma de la persona que conduce la revisión del asentimiento	Fecha
---	-------

Bibliografía

1. Mancillas A, Gómez Pérez F, Rull J, *Diagnóstico y clasificación de la Diabetes Mellitus, conceptos actuales*. Rev Mex Endocrinol Metab Nutr. 2002; 10(2): 63-68.
2. Valdespino JL, Olaiz G, López-Barajas MP, Mendoza L, Palma O, Velázquez O, et al. *Encuesta Nacional de Salud 2000*. Tomo I. Vivienda, población y utilización de servicios de salud. Cuernavaca, Morelos. Instituto Nacional de Salud Pública; 2003.
3. Stern MP, Williams K, Haffner SM, *Identification of persons at high risk for type 2 diabetes mellitus: do we need the oral glucose tolerance test?* Ann Intern Med. 2002; 136(8): 575–581.
4. Weiss R, Caprio S, Trombetta M, Taksali SE, Tamborlane WV, Bonadonna R, *β -Cell function across the spectrum of glucose tolerance in obese youth*. Diabetes care. 2005; 54(6):1735–1743.
5. Sun SS, Liang R, Huang TT, Daniels SR, Arslanian S, Liu K, et al. *Childhood obesity predicts adult metabolic syndrome: the Fels Longitudinal Study*. J Pediatr. 2008; 152(2):191–200.
6. Aguilar SC, Gómez PF, Rull JA. *Limitations of the diagnostic criteria for type 2 diabetes and glucose intolerance*. Rev Invest Clin. 2000; 52 (2): 177-184.
7. Gómez-Pérez FJ, Aguilar CA, López JC, et al. *Lack of agreement between the WHO category of impaired glucose tolerance and the American Diabetes Association category of impaired fasting glucose*. Diabetes Care. 1998; 21(11): 1886-1888.
8. James R, Mayer B, Ralph A, Steven G, Harris M, Kahn R, et al. *Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Diabetes Care. 1997 20 (7): 1183–1197.
9. Moore MC, Cherrington AD, Mann SL, Davis SN. *Acute fructose administration decreases the glycemic response to an oral glucose tolerance test in normal adults*. J Clin Endocrinol Metab. 2000; 85(12): 4515–4519.
10. Moore MC, Davis SN, Mann SL, Cherrington AD. *Acute fructose administration improves oral glucose tolerance in adults with type 2 diabetes*. Diabetes Care. 2001; 24(11): 1882–1887.
11. Bantle JP, Laine DC, Castle GW, Thomas JW, Hoogwerf BJ, Goetz FC. *Postprandial glucose and insulin responses to meals containing different carbohydrates in normal and diabetic subjects*. N Engl J Med. 1983; 309(1): 7–12.
12. Cannon MC, Nuttall FQ, Krezowski PA, Billington CJ, Parker S. *The serum insulin and plasma glucose responses to milk and fruit products in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients*. Diabetologia. 1986; 29(11): 784–791.
13. Julious SA. *Sample Size for Clinical Trials*. 2 ed. Boca Raton, FL: Taylor and Francis Group; 2010.

14. Kempf K, Fùth R, Dinh W, Bansemir L, Kùhler T, Bufe A, et al. *Screening for overt diabetes by oral glucose tolerance test: Stratification by fasting blood glucose and patients age improve practicability of guidelines in cardiological routine*, Int J Cardiol. 2011; 150 (2): 201-205.