



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO
GÓMEZ

ASOCIACIÓN ENTRE SOBREPoblación
BACTERIANA Y ESTEATOSIS HEPÁTICA EN
PACIENTES ADOLESCENTES CON DIABETES
MELLITUS TIPO 2 DEL HOSPITAL INFANTIL DE
MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA
EN
ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA
DRA. LISSETTE DEL RUBÍ GONZÁLEZ ALIYÁN



DIRECTOR DE TESIS:
D. en C. PATRICIA GUADALUPE MEDINA BRAVO



CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

HOJA DE FIRMAS

DRA. REBECA GÓMEZ CHICO VELASCO
DIRECTORA DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized 'P' followed by a horizontal line and a vertical stroke, all enclosed within a large, sweeping oval shape.

TUTORES D en C. PATRICIA MEDINA BRAVO
MÉDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO ENDOCRINOLOGÍA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

A mis padres, a mis hermanos y a mi esposo por todo su apoyo, por su ejemplo, por su amor, les agradezco infinitamente y les dedico cada una de las palabras que están en esta tesis.

Índice

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	3
4. Marco teórico	4
4.1. Microbiota intestinal y sobrecrecimiento bacteriano	4
4.2. Diabetes mellitus tipo 2, esteatosis hepática y su asociación con microbiota bacteriana y su sobrepoblación.	6
4.3. Prueba en aliento para diagnóstico de sobrepoblación bacteriana	8
5. Planteamiento del problema	9
7. Justificación	10
8. Objetivos	10
10. Método y diseño	11
10.1. Procedimientos	11
10.2. Criterios de selección	12
11. Consideraciones Éticas	13
12. Factibilidad	13
13. Recursos humanos	13
14. Recursos Materiales y financieros	14
15. Difusión	14
16. Análisis Estadístico	14
17. Variables de interés	15
18. Resultados	16
19. Discusión	18
20. Conclusiones	19
21. Limitación de estudio	19
22. Cronograma de actividades	20
24. Anexos	23

1. Resumen

Antecedentes. La microbiota intestinal es la comunidad de microorganismos vivos residentes en el tubo digestivo. Estos pueden llegar a causar respuestas adversas del hospedero mediante múltiples mecanismos metabólicos asociándose su incremento con diabetes y esteatosis hepática. Sin embargo, aunque se sabe que la diabetes mellitus puede predisponer al desarrollo de la microbiota intestinal ocasionando sobrepoblación bacteriana, no se ha explorado si esta a su vez está asociada a la presencia de esteatosis hepática. **Objetivo.** Evaluar la asociación entre la presencia de sobrepoblación bacteriana y esteatosis hepática en adolescentes con DM2. **Material y Métodos.** Se incluyeron 34 adolescentes con DM2 de ambos sexos, menores de 18 años, con consentimiento y asentimiento para participar en el estudio. Se les realizó antropometría, toma de muestras de HbA1c, pruebas de función hepática y perfil de lípidos. Se les realizó una prueba en aliento, la cual consistió en la recolección basal de una muestra de aire espirado seguida de la administración de 10g de lactulosa por vía oral y posteriormente recolección de muestras de aire espirado cada 20 minutos durante una hora y luego cada 30 minutos durante dos horas. En las muestras se analizó la concentración de hidrógeno y metano por medio de cromatógrafo de gases de marca Quintron. Para evaluar la EH se realizó ultrasonido hepático para estadificar el grado de esteatosis hepática mediante la clasificación de Tominaga. **Análisis estadístico.** Se empleó estadística descriptiva con medidas de tendencia central y dispersión, t de Student para muestras independientes y χ^2 para comparar frecuencias. Se consideró una $p \leq 0.05$ como significativa. **Resultados.** La edad promedio fue de 14.76 ± 2.36 años, peso 64.27 ± 15.18 Kg, talla 153.2 ± 28.54 cm, IMC 25.32 ± 5.82 Kg/m², circunferencia de cintura 87.84 ± 12.99 cm, TAS 104.18 ± 11.77 mmHg, TAD 67.33 ± 8.89 mmHg. La frecuencia de EH fue de 44.11% (n=15). De los pacientes con EH, el 60% (n=9) tenía EH leve, el 33.3% (n=5) EH moderada y el 6.7% (n=1) EH grave. Al comparar características antropométricas y bioquímicas entre los grupos con y sin EH, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos. No se encontró asociación entre la sobrepoblación bacteriana (prueba de aliento positiva o anormal) y la presencia de EH. **Conclusiones.** En nuestro grupo de adolescentes con DM2, no se encontró asociación entre esteatosis hepática y sobrepoblación bacteriana evaluados a través de US hepático y prueba de aliento.

2. Introducción

Los seres humanos co-evolucionaron como superorganismos como resultado de la relación mutualista con la enorme comunidad microbiana que reside en el tracto gastrointestinal; dicho ecosistema es mejor conocido como microbiota intestinal(1).

La microbiota intestinal ha pasado de considerarse un comensal acompañante a un órgano metabólico, con funciones en la nutrición, la regulación de la inmunidad y la inflamación sistémica (2) manteniéndose en constante cambio y reconfigurando su disposición metagenómica en respuesta a las variaciones diarias en la dieta o necesidades específicas fisiológicas e inmunológicas del huésped a diferentes edades(1).

Estos pueden llegar a causar respuestas adversas del hospedero mediante múltiples mecanismo metabólicos asociándose su incremento con diabetes y esteatosis hepática.

3. Antecedentes

Se han sugerido que la microbiota intestinal ejerce, un papel crucial en el desarrollo de la masa grasa y la alteración de la homeostasis energética. Las primeras pruebas que apoyan esta hipótesis fueron demostradas por Backhed et al. a través de un estudio realizado en ratones libres de gérmenes los cuales tenían un 40% menos de grasa corporal en comparación con los ratones que albergaron la microbiota desde su nacimiento, además al llevarse a cabo la convecionalización, se observó incremento en la masa grasa así como en la resistencia a la insulina (3).

Por otro lado el impacto del contenido en grasa de la dieta sobre microbiota intestinal y el desarrollo de inflamación de bajo grado fue estudiado en profundidad en el 2008 por Cani et al. Estos autores demostraron que la administración de una dieta alta en grasas por 4 semanas, además de alterar la microbiota de los ratones aumentando las bacterias gram-negativas a expensa de las gram-positivas, afectan la función intestinal de barrera(5). Por lo anterior se sugiere que perturbaciones en la composición de la microbiota (disbiosis), se asocian con enfermedades metabólicas como diabetes melitus, enfermedades cardiovasculares y esteatohepatitis no alcohólica (NASH)(6).

La enfermedad hepática grasa no alcohólica se está convirtiendo rápidamente en una de las enfermedades del hígado más comunes en la población pediátrica de los países industrializados esto secundario a la creciente prevalencia de obesidad y sobrepeso (7). Por lo anterior la comprensión de la importancia del microbioma intestinal en la modulación de la salud del huésped se ha convertido en un tema de gran interés para los investigadores y varios autores han utilizado diferentes pruebas para su estudio, entre las que destacan las pruebas de aliento, es así como Levitt y colaboradores han determinado la naturaleza del gas intestinal infundiendo argón en el intestino delgado superior, y analizando gases que eran recogidos del recto. Los 5 componentes principales analizados fueron el nitrógeno, oxígeno, hidrógeno, metano y dióxido de carbono. Dado que los tres últimos no se encuentran en el aire, se deduce que son producidos dentro del intestino(8) su medición nos permite detectar diversas anomalías, como la malabsorción de carbohidratos y el crecimiento excesivo de bacterias intestinales (SIBO).

4. Marco teórico

4.1. Microbiota intestinal y sobrecrecimiento bacteriano

Los investigadores se han interesado durante mucho tiempo en el ambiente bacteriano del intestino delgado y su relación a estados de enfermedad. En 1940, Hewetson muestreó directamente el intestino delgado abierto durante las operaciones por medio de un hisopo y concluyó que las porciones superior y media del intestino delgado son generalmente estériles estableciendo que existe una diferencia en concentración de bacterias con el intestino grueso encontrándose magnitudes mayores en este último secundario a su microambiente y sus diferencias anatómicas con el intestino delgado.(6)

Los seres humanos cuentan con comunidades microbianas intestinales que son esenciales para preservar la salud humana. La microbiota intestinal es un componente adaptativo de los superorganismos humanos que permite la adaptación del huésped en diferentes escalas de tiempo, optimizando su fisiología (1). Puede llegar a albergar hasta 100 trillones de microorganismos(2), siendo una de las comunidades más densamente pobladas, incluso más que el suelo y los océanos. Estos microbios son pertenecientes, fundamentalmente, a 7 filas: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia, Tenericutes, y Fusobacteria, con un predominio de las 2 primeras (90%) (9).

Evolutivamente, los organismos que componen la microbiota son determinados por los tipos de fuentes nutricionales, así como por factores genéticos, los cuales influyen en el predominio de unos microorganismos sobre otro, un ejemplo de esto son los ratones sometidos a dietas de tipo occidental los cuales muestran un incremento de Firmicutes y una disminución de Bacteroidetes (5)

La mayoría de los microbios asociados al huésped tienen un potencial metabólico extraordinario, desempeñando un papel fundamental en la salud humana, encontrándose

entre sus principales funciones la mejora en la respuesta del huésped a la invasión de patógenos, modulación de la expresión del gen de acogida y de la respuesta inmune y mejora de la utilización de polisacáridos (10).

El ciego y el colon ascendente son sede de procesos intensos de fermentación y sus poblaciones bacterianas están en continuo crecimiento, estas tienen enzimas que transforman a los polisacáridos complejos de la dieta, que el intestino humano no puede digerir ni absorber, en monosacáridos y ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acético, propiónico y butírico. El tercero, es empleado por los colonocitos como fuente de energía(9). Los 2 primeros se absorben a la circulación alcanzando concentraciones de 300 a 450 μM en la sangre portal y de 50 y 100 μM en la sangre periférica. Una vez captado por el hígado, el acetato sirve como sustrato preferencial para la glucogénesis y la síntesis de colesterol y triglicéridos, mientras que el propionato inhibe la expresión génica de las enzimas hepáticas involucradas en la lipogénesis de novo(11). La microbiota, a su vez, es capaz de modular los genes que afectan la disposición de la energía en los adipocitos(5) y se estima que las calorías derivadas de esta digestión bacteriana constituyen alrededor del 10% de toda la energía que absorbemos(9)

La mucosa intestinal a su vez, ejerce funciones de inmunidad adaptativa ya que su sistema inmune tiene la capacidad de responder a una infinidad de antígenos, pero también existe la inmunidad innata que es el reconocimiento de determinados antígenos, y que es heredada filogenéticamente desde las plantas hasta los vertebrados. Estos antígenos se han llamado patrones moleculares asociados a patógenos (PMAP) e incluyen lípidos, lipopolisacáridos (LPS) y lipoproteínas.. La interacción entre los receptores de reconocimiento, como el receptor tipo Toll y los PMAP induce la producción de citocinas e interferones (9).

La alteración en la composición de los microorganismos intestinales puede afectar el metabolismo del huésped y causar inflamación e incremento en los depósitos de grasa en el cuerpo lo cual es conocido como disbiosis (12). De manera normal se puede observar niveles de 10^3 organismos/ml en el intestino delgado, siendo estos en su mayoría Gram-

positivos, sin embargo cuando se excede de 10^5 - 10^6 organismos/m se define como sobrecimiento bacteriano (SB)(13).

4.2. Diabetes mellitus tipo 2, esteatosis hepática y su asociación con microbiota bacteriana y su sobrepoblación.

La diabetes mellitus se define como un conjunto de enfermedades heterogéneas caracterizadas por hiperglucemia, la cual es resultado de una disminución en la secreción de insulina por las células β del páncreas, resistencia a la acción de la misma en tejidos periféricos o ambas (14).

La incidencia de la diabetes mellitus (DM) se ha incrementado de manera considerable en las últimas décadas, tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo. Según la Federación Internacional de Diabetes en el 2015 México ocupaba el lugar número 6 del mundo con un total de 11.5 millones de personas con diagnóstico de diabetes mellitus(15). En la ENSANUT 2016 se encontró que la prevalencia de diabetes en el país pasó de 9.2% en 2012 a 9.4% en 2016, siendo mayor el número de mujeres que presentan esta patología en un 10.3% en comparación con los hombres que es de un 8.4%(16). Hay evidencia de que la diabetes tipo 2 en niños y adolescentes va en aumento, sin embargo, los datos fiables son escasos. En México, en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2012 se observó un incremento en el diagnóstico de enfermedades crónico degenerativas entre adolescentes, con una proporción de diagnóstico de diabetes en adolescentes mujeres de entre 16 y 19 años de edad de 0.8% en comparación con los hombres del mismo rango de edad de 0.6%(16).

La esteatosis hepática es una de las alteraciones metabólicas que se pueden encontrar en asociación con diabetes mellitus tipo 2. Se define como la acumulación de lípidos superior al 5% del peso total del hígado, en el interior de los hepatocitos. La incidencia exacta y la prevalencia de pediatría siguen siendo desconocidos, sin embargo la prevalencia reportada varía entre el 3% y el 10% con predominio en los niños frente a las

niñas, con una proporción 2: 1 (7). La enfermedad hepática grasa no alcohólica se diagnostica generalmente en período puberal / peripuberal, secundario al incremento de las hormonas sexuales con la consecuente resistencia a la insulina en la pubertad, o al mayor control sobre las opciones de alimentos poco saludables y sedentarismo del estilo de vida con modificación de la microbiota intestinal. Al respecto se observó una asociación entre el intestino y el hígado, denominado “gutliver eje12”. Esta relación se ha basado en que más del 70% del suministro de sangre al hígado se deriva de la vena porta desde el intestino, por lo que alteraciones de la barrera de la mucosa intestinal expone el hígado a factores tóxicos derivados de este último y la disrupción de la fisiología del hígado puede inducir a su vez disfunción intestinal. (17)

Se piensa que el principal producto bacteriano implicado en la EHNA y el HGNA es el lipopolisacárido, componente activo de las endotoxinas de la pared bacteriana, liberado con la muerte bacteriana en el intestino. El lipopolisacárido sufre translocación capilar por medio de un mecanismo dependiente de receptores tipo Toll (TLR-4) y es absorbido junto con los lípidos de la dieta. La absorción del lipopolisacárido activa a su vez la producción de TNF, IL-1 e IL-6. Las señales que despierta el TLR-4 promueven la resistencia a la insulina, la esteatosis hepática, la inflamación y la fibrogenesis. (18)

Los niños con NAFLD suelen ser asintomáticos. Sin embargo si se puede documentar hepatomegalia o ligeramente e inexplicables elevadas aminotransferasas séricas. Generalmente, la relación AST: ALT es menor que 1, pero este valor puede aumentar proporcionalmente a la progresión de la fibrosis. Algunos métodos diagnósticos pueden ser invasivos, sin embargo, la precisión del USG en la detección de esteatosis hepática varía dependiendo de la gravedad de la enfermedad, nos ofrece un diagnóstico bastante preciso de la esteatosis hepática de moderada a grave (grado histológico $\geq 30\%$), con una sensibilidad informada que va desde 81.8% a 100% y una especificidad tan alta hasta el 98% (45, 48). Sin embargo, su diagnóstico no es tan exacto cuando se consideran todos los grados de esteatosis (es decir, $\geq 5\%$), con una sensibilidad que oscila entre el 53.3% y el 66.6% y una especificidad que va de 77% a 93.1%. Empero este método es menos invasivo que la biopsia hepática la cual es considerada como el estándar de oro.

4.3. Prueba en aliento para diagnóstico de sobrepoblación bacteriana

La prueba de aliento se basa en la medición de los gases producidos en el intestino que difunden en la circulación sistémica y expiran a través de los pulmones. Existen 4 fuentes principales de gases intestinales: tragarse aire y aire mezclados con alimentos, reacciones químicas en el intestino, difusión de los gases de la corriente sanguínea, y el metabolismo microbiano(19). Los sujetos sanos tienen un promedio de aproximadamente 100 ml de gas (comprendido entre 30 y 200 ml), compuesto principalmente de hidrógeno, dióxido de carbono y metano, con menor cantidades de oxígeno, nitrógeno, hidrógeno sulfúrico de Indol, esquilato y amoníaco.(20) De estos, el hidrógeno y el metano son producidos exclusivamente a través de la fermentación microbiana en el intestino, que es el principio detrás de la prueba de aliento clínico.

Como preparación de este estudio el uso de antibióticos se ha demostrado claramente puede alterar la producción de gases y aunque no hay datos claros, debe existir una brecha de 4 semanas entre el cese de la terapia con antibióticos, así mismo los compuestos de magnesio pueden afectar los niveles de hidrógeno exhalado aumentando la probabilidad de un resultado falso positivo por lo que se recomienda suspender dicho medicamento 4 semanas previas al estudio. La prueba de aliento también se puede ver alterada por el consumo de carbohidratos complejos fermentables por lo que es necesario suspenderlos una noche previa al estudio. El tabaquismo impacta los resultados de las pruebas respiratorias aumentando el H₂ exhalado y CO₂ contenido de la respiración exhalada además aumenta el tiempo de tránsito gástrico, por lo que se debe evitar su consumo. (19) Esta prueba se puede realizar con diferentes sustratos entre los que se encuentra la lactulosa con una dosis de 10 g, glucosa a 75 g, fructosa a 25 g o lactosa 25 g y se debe considerar positiva para sobrepoblación bacteriana con niveles de metano ≥ 10 p.p.m. con respecto al basal a los 90 minutos o un aumento de hidrógeno de ≥ 20 p.p.m. a los 90 min de iniciada la prueba con respecto al basal(19).

5. Planteamiento del problema

A nivel global se ha observado un incremento en la incidencia y prevalencia de obesidad, actualmente México se encuentra en el primer lugar a nivel mundial con el consecuente incremento de otras alteraciones metabólicas como lo son la diabetes mellitus tipo 2 reportándose en el 2015 por la Federación Internacional de Diabetes en el lugar número 6 del mundo con un total de 11.5 millones de personas con este diagnóstico.

Sin embargo la población pediátrica ha tenido un aumento exponencial en el número de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 lo que implica que la tendencia de edad de inicio de esta patología cada vez es menor con el consecuente incremento de las complicaciones asociadas a esta patología lo que conlleva a un incremento de morbimortalidad así como aumento de los recursos de salud pública utilizados en el tratamiento de las mismas.

Dentro de las principales complicaciones encontradas en pacientes con obesidad y diabetes mellitus tipo 2 es la esteatosis hepática. Recientemente se ha encontrado una asociación positiva con la presencia de sobrepoblación bacteriana y esta condición, por lo que el poder realizar un estudio que nos permita encontrar la asociación de esteatosis hepática en niños con diabetes mellitus tipo 2, nos permitiría a futuro poder establecer un posible tratamiento con la finalidad de disminuir su incidencia y a su vez la morbimortalidad secundaria a la esteatosis hepática.

6. Pregunta de Investigación

¿Existe asociación entre sobrepoblación bacteriana y esteatosis hepática en pacientes adolescentes con diabetes mellitus tipo 2?

7. Justificación

En el paciente con DM2 se presenta alteración en el eje entero-endocrinológico. El mecanismo por el cual se afecta el sistema gastrointestinal es muy controversial, y aun no se conoce con exactitud el porcentaje de la población afectada.

Sin embargo actualmente no existen estudios en población pediátrica que hayan evaluado la asociación entre esteatosis hepática y sobrepoblación bacteriana en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

8. Objetivos

General

Explorar la asociación entre la presencia de sobrepoblación bacteriana con esteatosis hepática en pacientes adolescentes con DM2.

Específicos

1. Establecer la frecuencia de sobrepoblación bacteriana en los pacientes adolescentes con DM2.
2. Establecer la frecuencia de esteatosis hepática en pacientes con DM2.

9. Hipótesis

La presencia de sobrepoblación bacteriana se asocia a esteatosis hepática en los pacientes adolescentes con DM2.

10. Método y diseño

Diseño: Estudio observacional, transversal y comparativo.

Población objetivo adolescentes con diabetes mellitus tipo 2

Población elegible: Adolescentes con diabetes mellitus tipo 2 tratados en la clínica de diabetes del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

10.1. Procedimientos

Medición de Hidrógeno y Metano Consistirá en la recolección basal de una muestra de aire espirado seguida de la administración de 10g de lactulosa por vía oral y posteriormente la recolección de muestras de aire espirado cada 20 minutos durante una hora y luego cada 30 minutos durante dos horas. En las muestras se analizará la concentración de hidrógeno y metano por medio de un cromatógrafo de gases de marca Quintron.

Estadificación de esteatosis hepática mediante USG: Se realizará con equipo Simmens 2003 con sonda multifrecuencia electrónica y frecuencia 6-2. El grado de Esteatosis hepática se establecerá según la clasificación de Tominaga y será realizado por mismo médico radiólogo experto.

10.2. Criterios de selección

Inclusión

GRUPO 1

Pacientes de ambos sexos menores de 18 años de edad
Diagnóstico de DM2 de acuerdo a los criterios de la ADA.
Estadio de Tanner de II-IV.
Consentimiento para participar en el estudio

GRUPO 2

Pacientes de ambos sexos menores de 18 años de edad
Diagnóstico de DM2 de acuerdo a los criterios de la ADA.
Estadio de Tanner de II-IV.
Consentimiento para participar en el estudio
Esteatosis hepática diagnosticada mediante USG hepático.

Exclusión

Hepatopatías distintas a esteatosis hepática.

Antecedente de tratamiento con antimicrobianos las 4 semanas previas al estudio

Resección o derivaciones intestinales.

Paciente con antecedente de enfermedad pulmonar

Eliminación:

Al ser un estudio transversal no se cuenta con criterios de eliminación.

11. Consideraciones Éticas

De acuerdo a los lineamientos de la Ley General de Salud este estudio se considera con riesgo mínimo

El estudio involucra la extracción de sangre, por lo cual fue elaborado un formato de consentimiento informado (Anexos). Se solicitará el asentimiento del niño y el consentimiento del padre o tutor del familiar durante la consulta de primera vez. Se explicará con anticipación la confidencialidad de la información y los beneficios y derechos del paciente, los cuales están descritos en las cartas de asentimiento y consentimiento informado.

Se seguirán los principios éticos emitidos en la declaración de Gensiki, el Informe Belmont y las pautas normadas por la OMS.

El protocolo se sometió a evaluación pro el comité de investigación bioética y seguridad del Hospital infantil de México Federico Gómez

12. Factibilidad

Se cuenta con una población significativa de pacientes con DM2 en la consulta externa del Departamento de Endocrinología del Hospital Infantil de México Federico Gómez que permitirá incluir un total de 100 pacientes durante un año. Además se contara con el apoyo del personal y equipo del laboratorio de radiología, para la realización de los estudios especiales requeridos.

13. Recursos humanos

El equipo para el desarrollo del proyecto está conformado por un alumno de especialidad en endocrinología, así como dos investigadores con experiencia en estudios de diabetes y sobrecrecimiento bacteriano.

14. Recursos Materiales y financieros

Se contará con los recursos disponibles en el Departamento de endocrinología del Hospital Federico Gómez y del Laboratorio de Gastroenterología del Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI.

Se utilizarán los recursos de Fondos Federales 2015 del Hospital Infantil de México Federico Gómez, y en caso necesario se solicitará apoyo complementario al laboratorio de Gastroenterología del Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI.

15. Difusión

-Publicación de artículos originales en revistas científicas indexadas y con arbitraje estricto.

-Presentación de trabajos en congresos científicos

16. Análisis Estadístico

Las características demográficas de la población de estudio se presentarán como porcentaje en el caso de variables categóricas y como media \pm desviación estándar para las variables continuas.

Las variables categóricas se compararán por medio de χ^2 cuadrada, mientras que las variables continuas por medio de la prueba t de Student o U de Mann Whitney. Para explorar el grado de asociación entre la presencia de SB y EH se realizará un análisis de regresión logística multivariada. Todos los análisis se realizarán con el programa SPSS 20.

17. Variables de interés

Dependiente:

Esteatosis hepática. Clasificación de Tominaga.

ASPECTOS ULTRASONOGRAFICOS PUNTAJE	DEFINICIÓN DEL GRADO DE INFILTRACIÓN GRASA
ECOTEXTURA HEPATICA 0 1 2 3	Normal (eco de parenquima normal sin diferencia de contraste entre el parenquima del hígado y riñón) Leve (leve incremento en ecotextura hepática) Moderado (ecotextura hepática entre grado 1 y 3) Severo (marcada discrepancia in la ecogenicidad del parenquima hepática en relación con el parenquima renal)
PENETRACION DE EL ECO Y VISIBILIDAD DE EL DIAFRAGMA 0 1 2 3	Normal (las estructura hepática es claramente distinguida del diafragma, cuyos bordes son claramente identificados) Leve (leve atenuación del eco hepático) Moderado (intermedio entre grado 1 y 3) Severo (pronunciada atenuación del eco en el hígado, el diafragma no es claramente identificado)
DISTINCION DE LA VASCULATURA HEPATICA 0 1 2 3	Normal (paredes y lumen de los vasos, claramente identificados). Leve (leve reducción en la definición de las paredes de las vénulas portales) Moderado (intermedio entre grado 1 y 3) Severo (Sólo las paredes de la vena porta principal puede ser visualizado, vénulas pequeñas no visibles)

Se considera que no hay esteatosis hepática con un puntaje de 0, leve con puntaje de 1-3, moderada con puntuación de 4-6 y mayor de 7 se considera severa.

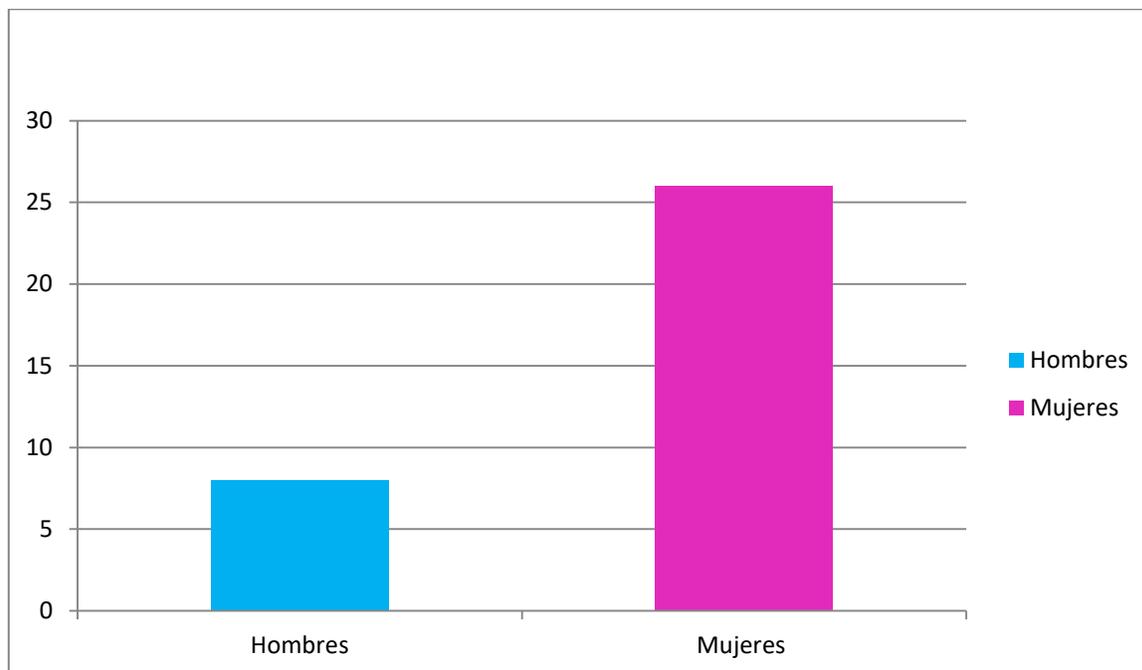
Independiente:

Sobrecrecimiento bacteriano: Niveles de metano ≥ 10 p.p.m. con respecto al basal a los 90 minutos o un aumento de hidrógeno de ≥ 20 p.p.m. a los 90 min de iniciada la prueba con respecto al basal

Variables confusoras:

Edad, género, tiempo de evolución de DM2, tratamiento.

18. Resultados



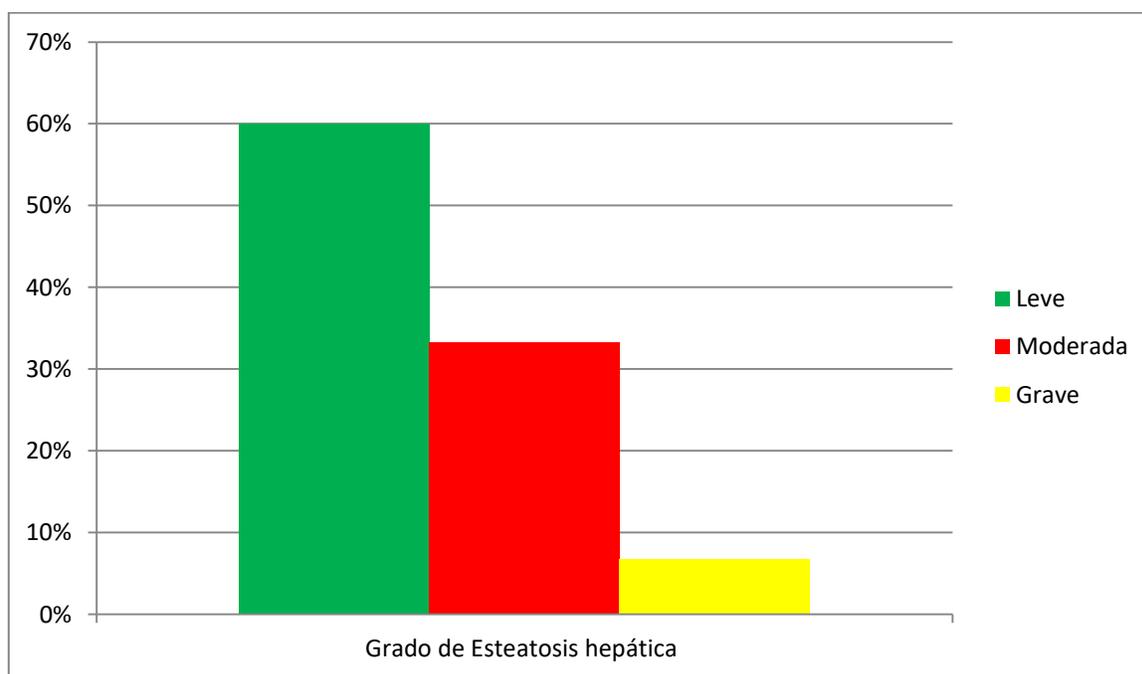
Gráfica 1. Población total con diabetes mellitus tipo 2

Característica	GLOBAL (N=34)	Grupo con EH (N=15) 44.11%	Grupo sin EH (N=19) 55.9%	Valor de p*
Edad (años)	14.76(±2.36)	14.27(±1.58)	15.16(±2.81)	0.281
Peso (Kg)	64.27(±15.18)	66.32(±15.05)	62.64(±15.48)	0.491
Talla (cm)	153.2(±28.54)	146.87(±40.97)	158.20(±11.33)	0.257
IMC (Kg/m ²)	25.32(±5.82)	26.02(±7.37)	24.76(±4.36)	0.540
Circunferencia de Cintura (cm)	87.84(±12.99)	90.92(±14.86)	85.42(±11.11)	0.226
TAS (mmHg)	104.18(±11.77)	103.95(±13.04)	104.36(±11.04)	0.921
TAD (mmHg)	67.33(±8.89)	68.34(±9.95)	66.53(±8.14)	0.565

Tabla 2. Característica clínicas y antropométricas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2

Característica	GLOBAL (N=34)	Grupo con EH (N=15) 44.11%	Grupo sin EH (N=19) 55.9%	Valor de p*
Perfil lipídico (mg/dl)				
-Colesterol Total	161.61(±45.29)	165.33(±53.60)	158.68(±38.79)	0.678
-C-HDL	45.73(±12.28)	43.66(±9.61)	47.36(±14.08)	0.391
-C-LDL	98.24(±36.67)	97.98(±36.87)	98.44(±37.51)	0.678
-Triglicéridos	123.82(±100.78)	157.26(±133.86)	97.43(±54.93)	0.086
Perfil Hepático (μU/L)				
-ALT	29.19(±14.38)	34.00(±19.67)	25.23(±6.03)	0.129
-AST	24.90(±12.27)	29.35(±12.27)	21.23(±11.33)	0.066
-GGT	34.39(±19.96)	31.30(±11.37)	36.76(±24.99)	0.527
HbA1c (%)	7.95(±1.72)	7.38(±0.84)	8.42(±2.11)	0.069

Tabla 3. Características metabólicas (Perfil lipídico y hepático) en pacientes con diabetes tipo 2.



Gráfica 2. Grado de esteatosis hepática según clasificación de Tomiyaga.

19. Discusión

El presente estudio evaluó de manera transversal la existencia de la asociación entre esteatosis hepática en pacientes adolescentes con diabetes tipo 2 en el cual se incluyeron pacientes de 14.76 ± 2.36 años de los cuales 44.11% cursaron con esteatosis hepática la cual se clasificó según los criterios de Tominaga en leve, moderada y severa, siendo su mayoría los paciente con esteatosis hepática leve con un 60%. No existe hasta el momento en la literatura un estudio similar en pacientes pediátricos, por lo que a pesar de no encontrarse asociación no se puede descartar que esto sea secundario al tamaño de la muestra.

Aunque no era el objetivo de este estudio se logran identificar un grupo de pacientes que respecto a la prueba de aliento, no se encuentran ni dentro de rangos de la normalidad ni dentro de los rangos establecidos para hacer diagnóstico de sobrepoblación bacteriana ya que la elevación de hidrógeno > 20 p.p.m al basal ocurre a los 120 min considerado por algunos autores como parte del intestino grueso, cabe recordar la definición establecida para sobrepoblación bacteriana es la elevación de >20 p.p.m. con respecto al basal a los 90 min posterior al inicio de la muestra.

La microbiota intestinal es un actor importante en el rescate colónico de energía, participa en el almacenamiento de grasa en los adipocitos, sin embargo la microbiota de los pacientes con obesidad o sobrepeso se puede encontrar alterada comparada con aquella de los normopeso, lo que podría explicar que al estar e relación con una dieta rica en grasas es un factor que lo que podría explicar su mayor eficiencia en la extracción de energía a partir de los alimentos. El contenido en grasa de la dieta también es un factor que puede alterar la composición de la microbiota del aumento de las concentraciones plasmáticas de lipoproteínas y el consiguiente desarrollo de un estado proinflamatorio que facilita la aparición de resistencia insulínica, por lo tanto sería ideal mantener en vigilancia tanto a los pacientes que cursan con prueba de aliento positiva y los que cursan con una prueba anormal ya que el riesgo metabólico en estos pacientes se podría ver incrementado.

20. Conclusiones

En nuestro grupo de adolescentes con DM2, no se encontró asociación entre esteatosis hepática y sobrepoblación bacteriana evaluados a través de US hepático y prueba de aliento.

21. Limitación de estudio

Dada la naturaleza transversal del estudio, los resultados solo pueden demostrar o que ocurre en el momento de las mediciones correspondientes, por lo que solo podemos establecer asociación entre las variables sin poder establecer causalidad.

Solo se incluyen pacientes con diagnósticos de dm 2 de al menos 6 meses de evolución, de acuerdo a los criterios de la ADA, ya que algunos pacientes pediátricos, con diabetes mellitus, al momento del debut de la enfermedad o permiten diferenciar entre el tipo de diabetes.

Además, por situaciones metodológicas del estudio, la prueba de aliento solo se puede realizar en adolescentes, lo que reduce nuestro tamaño de muestra.

22. Cronograma de actividades

ACTIVIDAD	Abril 2016 a Diciembre 2016	Diciembre 2016 a Febrero 2016	Febrero 2017 a Mayo 2017
Diseño del protocolo	X		
Ejecución del estudio	x	X	
Recolección de datos		X	x
Análisis de datos			x
Presentación de resultados			x
Publicación del escrito y Tesis			x

23. Referencias bibliográficas

1. Quercia S, Candela M, Giuliani C, Turrone S, Luiselli D, Rampelli S. From lifetime to evolution : timescales of human gut microbiota adaptation. 2014;5(November):1–9.
2. Costello EK. in Human Body Habitats Across. 2012;1694(2009).
3. Everard A, Sc M, Cani PD. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology Diabetes , obesity and gut microbiota. Best Pract Res Clin Gastroenterol [Internet]. 2013;27(1):73–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2013.03.007>
4. Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. 2007;104(3).
5. Maslowski KM, Mackay CR. c o m m e n t a r y Diet , gut microbiota and immune responses. Nat Publ Gr [Internet]. 2011;12(1):5–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ni01111-5>
6. Khoshini R, Sheila A. A Systematic Review of Diagnostic Tests for Small Intestinal Bacterial Overgrowth. 2008;1443–54.
7. Tan H, Chang JP. Non-alcoholic Fatty Liver Disease. Proceedings Singapore Healthc. 2010;19(1):36–50.
8. Babb RR. Intestinal Gas Pathogenesis of Hemolysis in Immune Hemolytic. 1977;(October):362–3.
9. Gómez Arce A. Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. Rev Gastroenterol México [Internet]. 2016;4(78):240–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rgmx.2013.04.004>
10. Arnold JW, Roach J, Azcarate-peril MA. Emerging Technologies for Gut Microbiome Research. Trends Microbiol [Internet]. 2017;24(11):887–901. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2016.06.008>
11. Wong JMW, Souza R De, Kendall CWC, Emam A, Jenkins DJA. Colonic Health : Fermentation and Short Chain Fatty Acids. 2006;40(3):235–43.

12. Arslan N. Obesity, fatty liver disease and intestinal microbiota. *World J Gastroenterol*. 2014;20(44):16452–63.
13. Krajicek EJ, Hansel SL. Small Intestinal Bacterial Overgrowth. *Mayo Clin Proc* [Internet]. 2016;91(12):1828–33. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619616305894>
14. Statements P. Standards of medical care in diabetes - 2012. *Diabetes Care*. 2012;35(SUPPL. 1).
15. International Diabetes Federation. Atlas de la diabetes de la FID [Internet]. International Diabetes Federation. 2013. 14 p. Available from: http://www.fmdiatetes.org/fmd/des/SP_6E_Atlas_Full.pdf
16. ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf.
17. Jiang W, Wu N, Wang X, Chi Y, Zhang Y, Qiu X, et al. Dysbiosis gut microbiota associated with inflammation and impaired mucosal immune function in intestine of humans with non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep* [Internet]. 2015;5(1):8096. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep08096>
18. Ghoshal S, Witta J, Zhong J, Villiers W De, Eckhardt E. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. 2009;50.
19. Rezaie A, Buresi M, Lembo A, Lin H, McCallum R, Rao S, et al. Hydrogen and Methane-Based Breath Testing in Gastrointestinal Disorders: The North American Consensus. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2017;112(5):775–84. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ajg.2017.46>
20. The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org at OREGON HEALTH & SCIENCE UNIV on March 26, 2015. For personal use only. No other uses without permission. From the NEJM Archive. Copyright © 2010 Massachusetts Medical Society. All rights reserved. 2010;

24. Anexos



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Nacional de Salud

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Carta de Consentimiento para Participar en un Estudio de Investigación *HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ*

El propósito de esta carta de consentimiento es darle la información necesaria para que usted y su hijo(a) decidan la participación en el estudio.

Investigador Principal: Dra. Patricia Guadalupe Medina Bravo

Propósito del estudio: Se le ha pedido a su hijo (a) participar en una investigación que se está realizando en niños y adolescentes con diabetes mellitus tipo 2, para encontrar si la presencia de bacterias en su intestino, se relaciona con el control de su enfermedad. El estudio consiste en determinar la cantidad de bacterias en su organismo a través de una prueba de aliento y medir los niveles de diversas sustancias en su organismo.

Procedimientos del estudio: Si usted acepta que su hijo participe en el estudio, deberá acudir en una ocasión para que se tomen muestras de sangre en ayuno. Una muestra de sangre será utilizada para medir las grasas en la sangre (colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad que es considerado como colesterol protector o bueno y el colesterol de baja densidad, considerado como el colesterol malo) y la hemoglobina glucosilada, que nos dice como se encuentra el control de la diabetes de su hijo en los últimos tres meses. En una cita posterior se le realizará una prueba de aliento, la cual consistirá en la toma de una muestra de aire que sale por la boca de su hijo y se colecta en un tubo, seguida de la toma de un medicamento (lactulosa) por vía oral y posteriormente seguir tomando muestras del aire que sale de la boca de su hijo cada 20 minutos durante una hora y luego cada 30 minutos durante dos horas. Medico radiologo experto en ultrasonido realizará estudio ultrasonográfico del hígado para estadificar la esteatosis hepática.

Riesgos del estudio. Los riesgos de este estudio surgen de la necesidad de obtener muestras de sangre. Las punciones venosas pueden causar incomodidad local y posiblemente

moretones. La extracción de muestras de sangre puede causar ligero mareo o vértigo que puede remediarse con bajar la cabeza y alzar las piernas. La realización del estudio de la prueba de aliento es la forma de medir la cantidad de bacterias que pueden existir en su organismo y puede presentarse mareo durante la prueba que puede remediarse con bajar la cabeza y alzar las piernas.

Beneficios del estudio: En esta parte del estudio, no existirán beneficios directos para su hijo. De encontrarse que el tener más bacterias en su intestino se relaciona con el control de su diabetes, se realizará un segundo estudio para dar tratamiento en aquellos pacientes con mayor cantidad de bacterias en su intestino y en caso de contar con datos de esteatosis hepática se iniciará tratamiento.

Costos: La participación en este estudio no tiene ningún costo para usted y su hijo(a).

Compensación: Por participar en este estudio usted y su hijo(a) no recibirán ninguna compensación monetaria.

Confidencialidad: Los resultados de los estudios realizados a su hijo les serán proporcionados dos semanas después de que sea extraída la muestra de sangre. Algunas determinaciones de serán realizadas posteriormente y los resultados serán mantenidos en archivos confidenciales de los investigadores principales.

La participación es voluntaria: La participación de su hijo(a) en este estudio es voluntaria. Pueden hacer cualquier pregunta relacionada con este estudio y tienen derecho a obtener respuestas adecuadas. Su hijo(a) puede abandonar o terminar este estudio en cualquier momento. Si su hijo(a) decide abandonar el estudio, ésto no será obstáculo para ningún tratamiento que esté recibiendo o tenga que recibir, y no afectará sus consultas médicas actuales o futuras en los servicios que ofrece el Hospital Infantil de México Federico Gómez..

Preguntas: Usted puede ponerse en contacto con la Dra. Patricia Guadalupe Medina Bravo al teléfono 5228-9917, extensión 2167 si tiene alguna pregunta relacionada con la participación en esta investigación.

Asegurese de firmar esta carta hasta que haya usted entendido el estudio y resuelto sus dudas con el investigador responsable del estudio.

Nombre con letra de molde: _____

Firma: _____

Fecha: _____

Madre (Padre)

Nombre y firma

Fecha:

Testigo:

Nombre y firma

Fecha:

Investigador:

Dra. Patricia Guadalupe Medina Bravo

Fecha

Departamento de Endocrinología

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dr. Márquez No 162. Colonia Doctores. Delegación Cuauhtémoc. C.P. 03020

Teléfono 5228-9917 Extensión 2167

Carta de Asentimiento para participar en un estudio de investigación *HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ*

Carta de Asentimiento para Participar en un Estudio de Investigación.

En el Hospital Infantil de México Federico Gómez estamos realizando un estudio de investigación en niños con diabetes mellitus tipo 2. El realizar estudios de investigación es una forma de aprender más sobre las enfermedades. Te estamos invitando a participar en este estudio, en el cual investigaremos si existe relación entre el peso que tuviste cuando naciste y la cantidad de grasa que hay a nivel de tu abdomen.

Procedimientos del estudio: si decides participar en el estudio, deberá asistir a la consulta externa de endocrinología para que se te tomen muestras de sangre en ayuno en la primera cita. Una muestra de sangre será utilizada para medir las grasas en la sangre (colesterol, triglicéridos, colesterol de lipoproteínas de alta y baja densidad). Uno de los investigadores te realizará un examen físico y te medirá tu peso, estatura, presión arterial y cintura. Posteriormente se te dará una cita, para la realización de una prueba de aliento, para determinar la cantidad de bacterias que hay en tu intestino. La prueba de aliento consiste en la toma de una muestra de aire que sale por tu la boca y se colecta en un tubo, después se te da a tomar un medicamento (lactulosa) por vía oral y posteriormente se te seguirán tomando muestras del aire que sale de tu bocacada 20 minutos durante una hora y luego cada 30 minutos durante dos horas.

Los riesgos de este estudio están dados porque se necesita tomar muestras de sangre mediante la realización de una punción en la vena del antebrazo, lo cual puede ser doloroso o causarte moretones.

Este estudio nos proporcionará más conocimientos acerca de la diabetes y el control de dicha enfermedad, los cuales podemos utilizar para transmitirlos a otros médicos y ayudar a otros adolescentes que padezcan la misma enfermedad.

Cuando hayamos terminado el estudio escribiremos un reporte sobre los resultados y lo que hemos aprendido. En este reporte no aparecerá tu nombre y nadie sabrá que participaste en el

estudio. Puedes preguntar todas las dudas que tengas en cualquier momento y eres libre de participar o no según sea tu deseo. Nosotros seguiremos dándote la atención con mucho gusto.

Si decides participar en el estudio escribe tu nombre y firma

Estoy de acuerdo en participar Sí _____ No_____

Nombre con letra de molde: _____

Firma: _____ Fecha: _____

Testigo 1

Nombre con letra de molde: _____

Firma: _____ Fecha: _____

Testigo 2

Nombre con letra de molde: _____

Firma: _____ Fecha: _____

Dra. Patricia Guadalupe Medina Bravo _____

Fecha _____

Investigador responsable

Departamento de Endocrinología

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Dr. Márquez # 62. Col. Doctores. Delegación Cuauhtémoc. CP 06720. México DF.

Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 2167