



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO “DR. EDUARDO LICEAGA”

**“EFECTOS DEL TRATAMIENTO CON PROBIÓTICOS EN LA MICROBIOTA
INTESTINAL DEL PACIENTE ADULTO CON OBESIDAD GRADO II Y III Y SUS
EFECTOS SOBRE EL CONTROL METABÓLICO”**

TESIS

QUE OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA

PECH RUEDA LAURA OLIVIA

TUTOR PRINCIPAL

DRA. NAYELY GARIBAY NIETO

**CLÍNICA DE OBESIDAD DEL HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO “DR. EDUARDO
LICEAGA”**

Ciudad Universitaria, CD.MX

Mayo 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	2
EFFECTOS DEL TRATAMIENTO CON PROBIÓTICOS EN LA MICROBIOTA INTESTINAL DEL PACIENTE ADULTO CON OBESIDAD GRADO II Y III Y SUS EFECTOS SOBRE EL CONTROL METABÓLICO.	3
I. MARCO TEÓRICO	3
<i>Microbiota Intestinal</i>	4
<i>Funciones De La Microbiota Intestinal</i>	4
<i>Disbiosis Y Sus Efectos Metabólicos</i>	6
<i>Uso De Probióticos Y Sus Efectos Metabólicos.....</i>	8
<i>Efectos Adversos Atribuidos Al Uso De Probióticos</i>	9
<i>Caracterización De La Comunidad Microbiana</i>	9
<i>Secuenciación Masiva Semiconductora De Iones De Una Genoteca De 16S rDNA</i>	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
JUSTIFICACIÓN.....	10
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	11
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	11
<i>Objetivo General.....</i>	11
<i>Objetivos Específicos.</i>	11
MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
<i>Tipo y Diseño del estudio.....</i>	12
<i>Lugar de Estudio.</i>	12
<i>Población y Tamaño de la Muestra.....</i>	12
<i>Criterios de Selección.....</i>	13
<i>Definición de Variables.....</i>	14
<i>Diseño del estudio.</i>	16
RESULTADOS:	22
<i>Características basales de la población.</i>	23
<i>Efectos del tratamiento en parámetros de composición corporal y presión arterial.</i>	24
<i>Efectos sobre parámetros de control glucémico.....</i>	26
<i>Efectos sobre parámetros bioquímicos</i>	27
<i>Efectos sobre la microbiota intestinal.....</i>	29
DISCUSIÓN	32
CONCLUSIONES	34
BIBLIOGRAFÍA.....	35
ANEXOS.....	39

AGRADECIMIENTOS

- *A mi mamá, Olivia Rueda, quien me ha apoyado continuamente en cada paso que doy, me escucha, me comprende, me protege y me anima. En especial, durante este proyecto, me alentaste a continuar a pesar de las adversidades.*
- *A mi papá, Jorge Pech, quien fue la luz que necesitaba cuando solo veía oscuridad. Con tu ejemplo, me enseñaste a ser valiente y a luchar por mis sueños hasta agotar todas las posibilidades. En este tiempo, disfrute mucho tu análisis metódico y mente estratégica.*
- *Al Dr. Oscar Prospero, a quien debo mi amor a la ciencia, quien me inspira y abre mi mente para continuar en este camino.*
- *A la Dra. Nayely Garibay, mi directora de tesis, quien me brindo apoyo académico y personal y quien me acompaño en este camino lleno de obstáculos, errores y aciertos con paciencia, comprensión y conocimiento.*
- *Al Dr. Diego Arenas, quien con su apoyo firme y permanente desde el principio permitió el desarrollo de este proyecto.*
- *A Italmex Pharma, por su apoyo al donar los tratamientos necesarios para la realización de este proyecto.*
- *A Medix, quienes me apoyaron con el procesamiento de las muestras.*
- *Al Dr. Jaime García Mena, Dr. Khemlal Nirmalkar y al Mtro. Obed Solís, quienes me acompañaron en este proyecto y fueron apoyo académico y espiritual importante.*

EFFECTOS DEL TRATAMIENTO CON PROBIÓTICOS EN LA MICROBIOTA INTESTINAL DEL PACIENTE ADULTO CON OBESIDAD GRADO II Y III Y SUS EFECTOS SOBRE EL CONTROL METABÓLICO.

I. MARCO TEÓRICO

La obesidad, es un estado que resulta de un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y utilizadas que conllevan a la acumulación excesiva de grasa corporal con efectos nocivos para la salud. Su prevalencia ha ido incrementando de manera exponencial en las últimas décadas, en cifras de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 1975 a la fecha se ha triplicado el número de casos a nivel mundial. En el 2016 alrededor del 13% de la población adulta mundial (11% hombres y 15% mujeres) era obesa, lo que corresponde a más de 650 millones de personas.¹ México se encuentra dentro de los principales países afectados por este padecimiento. Desde el año 2000, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad a aumentado en un 13.7% siendo en la actualidad un problema de salud pública, por lo anterior, la Secretaría de Salud junto con el Comité Nacional de Seguridad en Salud en el año 2016 emitieron una declaratoria de emergencia epidemiológica.² En el 2018 la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) reportó en adultos de 20 o más años una prevalencia nacional de obesidad de 35.3%, siendo 9.7% más alta en mujeres (40.2%) que en hombres (30.5%), de manera notoria, se observó que el 12.2% corresponden a los grados más severos (grado II y III).³

Adicionalmente, el desarrollo de obesidad esta asociado con aumento en la morbimortalidad de las personas que la padecen. Un estudio realizado en el 2003 observó en los sujetos con obesidad una disminución de entre 8 y 20 años de vida.⁴ Asimismo, se ha advertido que la obesidad conlleva a un riesgo muy aumentado (riesgo relativo mayor a 3) de padecer enfermedades tales como resistencia a la insulina, diabetes mellitus 2 o dislipidemia, y riesgo moderado (riesgo relativo entre 2 – 3) para hipertensión arterial sistémica, hiperuricemia, falla cardiaca, entre otras.⁵

La etiología de la obesidad es multifactorial, siendo resultado de una compleja interacción de factores genéticos y ambientales. Sin embargo, en los últimos años diversos investigadores han involucrado a la microbiota intestinal en su desarrollo y en sus secuelas a nivel metabólico, a través de múltiples mecanismos que conllevan una mayor absorción y almacenaje de energía de la dieta.⁶

Microbiota Intestinal

La microbiota intestinal (MI) es un microecosistema dinámico que contiene a una diversa población de microorganismos (10 a 100 billones de microbios) que incluyen bacterias, arqueas, virus y hongos, siendo las bacterias los microorganismos predominantes. El análisis del genoma colectivo de esta microbiota (microbioma) a través de muestras fecales ha identificado más de 5 millones de genes, lo que equivale aproximadamente a 100 veces más genes bacterianos que humanos.⁷⁻⁹

La composición y densidad de la MI varía a lo largo del tracto gastrointestinal. Los filotipos bacterianos más comunes son los Firmicutes y los Bacteroidetes, que representan más del 90% de las bacterias totales. Así mismo, las bacterias anaerobias son más abundantes que las aerobias y su densidad se modifica con un gradiente próximo-distal que varía desde 10^{2-3} células/gr de tejido en el yeyuno e íleo proximal a 10^{7-8} en el íleo distal y 10^{11-12} en el colon ascendente.^{9,10} Tras el desarrollo de múltiples técnicas para el estudio de la microbiota intestinal basadas en la metagenómica cuantitativa, principalmente las establecidas en análisis del ARN/ADN ribosomal 16S, se ha identificado que su diversidad genética esta relacionada con su capacidad metabólica y bioquímica.^{9,11,12} De igual forma, se ha observado que son diversos los factores que influyen en su composición, los principales cambios se presentan durante el periodo de crecimiento, en relación con factores como la vía de nacimiento, la presencia/ausencia de lactancia materna, el periodo de ablactación, la localización geográfica, el tipo de dieta o el uso de antibióticos. Sin embargo, durante la vida adulta esta se mantiene relativamente constante.¹³⁻¹⁵

Funciones De La Microbiota Intestinal

Entre las diversas funciones que se le han atribuido a la MI se encuentran la regulación de los procesos de digestión/absorción de nutrientes, metabolismo de carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos biliares, metabolismo de ciertos fármacos, regulación y desarrollo de la respuesta innata y adaptativa, entre otras.

Una de sus principales funciones es el metabolismo de los polisacáridos complejos de la dieta, liberando en el proceso ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acetato, propionato y butirato. Estos AGCC son una fuente de energía importante del epitelio colonico y el hospedero, que proporciona un estimado de 5% a 15% de los requerimientos de energía humana, principalmente al funcionar como ligandos de un grupo de receptores acoplados a proteínas G localizados en las células enteroendocrinas, el receptor de ácidos grasos libres 2 y 3 (GPR43 y GPR41 respectivamente). Estos receptores funcionan como moduladores del balance energético de la dieta dependiente de la microbiota intestinal a través de vías de señalización que incluyen al péptido YY (PYY) y al péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1). El propionato estimula tanto el

GPR43 como el GPR41, el acetato activa en forma preferencial el GPR43, mientras que el butirato actúa principalmente a través del GPR41. La estimulación de GPR43 promueve el almacenamiento de energía mediante el aumento de la adipogénesis, la inhibición de la lipólisis en los adipocitos y la disminución del gasto energético. En cambio, la activación del GPR41 disminuye la motilidad intestinal y promueve el almacenamiento de energía de la dieta.^{16,17}

Estudios realizados en ratones knockout para GPR43 Y GPR41 tienen menor ganancia de peso, mayor sensibilidad a la insulina, menor cantidad de triglicéridos hepáticos y colesterol plasmático, cuando son alimentados con una dieta hipergrasa, comparado con el grupo control.¹⁸ Es por estos hallazgos que se les ha señalado como moduladores del balance energético de la dieta. Otros estudios en donde se utilizan ratones libres de gérmenes (LG) han demostrado otros mecanismos involucrados. Uno de ellos incluye al factor adiposo inducido por el ayuno (ANGPTL4) el cual actúa como inhibidor de la lipoprotein lipasa (LpL). Por otro lado, existe evidencia que los ratones LG tienen aumentada la actividad de la AMPK, la cual es una enzima involucrada en la oxidación de ácidos grasos.¹⁹

Por otra parte, los mecanismos propuestos a través de los cuales la MI regula el metabolismo lipídico son:

- 1) La conversión intraluminal del colesterol al producto saturado coprostanol, ya que el intestino humano tiene una capacidad disminuida de absorber el coprostanol. Algunos estudios han observado una relación inversa entre los niveles de colesterol en suero y la concentración de coprostanol/colesterol en las heces humanas;
- 2) La desconjugación de sales biliares por la enzima bilis-sal hidrolasa (BSH) la cual tras la deshidroxilación del séptimo carbono produce ácido desoxicólico o ácido litólico, moléculas involucradas en la absorción de lípidos, homeostasis del colesterol y la respuesta inmune.²⁰ El hígado produce ácidos biliares (glicina, taurina y sulfatos conjugados) a partir del colesterol. El 80 – 95 % de estos ácidos biliares son reabsorbidos en el íleo terminal a través del proceso de circulación enterohepática, sin embargo, la proporción de ácidos biliares no reabsorbida es desconjugada por enzimas hidrolíticas de las bacterias intestinales y por lo tanto excretada en las heces. El colesterol, al ser un precursor de los ácidos biliares, se descompone para reemplazar las sales biliares procesadas, lo que conduce a una reducción del colesterol sérico. Esta capacidad de desconjugación de ácidos biliares está ampliamente extendida entre los microorganismos intestinales. Sin embargo, se ha identificado principalmente en *Bacteroides sp*, *Bifidobacterium sp* y *Lactobacillus*. Otros mecanismos sugeridos en el metabolismo lipídico son:
- 3) La asimilación del colesterol en membranas celulares bacterianas y
- 4) La producción de AGCC.²⁰⁻²³

En cuanto al metabolismo proteico, este se produce esencialmente en el colon distal formando AGCC, se ha observado también que bacterias del género *Bacteroides*, *Rosebura* y *Streptococcus* tienen la habilidad de sintetizar aminoácidos esenciales, necesarios para el hospedero. Sin embargo, las reacciones de

descarboxilación y desaminación producen otros metabolitos potencialmente tóxicos como el amoníaco (NH₃), las aminas, los compuestos N-nitrosos, compuestos fenólicos y sulfuros. A su vez la fermentación de aminoácidos aromáticos causa un incremento significativo de p-cresol, metabolito tóxico asociado con daño al ADN de las células epiteliales y el desarrollo de cáncer de colon.²⁰

Disbiosis Y Sus Efectos Metabólicos

Si bien hasta el momento no se han establecido las características de la microbiota normal, se han identificado diferencias en la composición microbiana de los sujetos sanos comparada con la de los sujetos que padecen diversas enfermedades. Una composición de la microbiota significativamente diferente y relacionada con una enfermedad se llama disbiosis.

Estudios en humanos han mostrado diferencias importantes entre sujetos metabólicamente sanos y no saludables. En el 2013, Le Chatelier y colaboradores estudiaron una cohorte danesa de 292 sujetos a quienes realizaron análisis sobre la abundancia de bacterias intestinales a través de la cantidad de lecturas de ADN bacteriano en muestras fecales. La comparación del número de genes en la muestra total reveló una distribución bimodal de genes bacterianos con un punto de cohorte en 480 000 genes, con lo cual se clasificó a los sujetos en “baja riqueza bacteriana” y “alta riqueza bacteriana”, con un promedio de 380 000 y 640 000 genes respectivamente. Las personas con “baja riqueza bacteriana” (23% de la población) se caracterizaron por presentar adiposidad general más marcada, resistencia a la insulina, dislipidemia y un fenotipo inflamatorio más pronunciado en comparación con las personas de “alta riqueza bacteriana”.²⁴ De forma similar, Fu en el 2015, observó una fuerte asociación de los sujetos con “baja riqueza bacteriana” y un perfil lipídico desfavorable caracterizado por elevaciones en las cifras de triglicéridos (TGR) y disminución en los niveles de lipoproteínas del alta densidad (HDL) en una cohorte de 893 sujetos, quienes adicionalmente mostraban abundancia de *Actinobacterias* y disminución de *Proteobacterias* y *Bacteroides*.²⁵ Resultados similares fueron obtenidos en los estudios realizados por Cotillard.²⁶ Otros autores han observado diferencias relevantes en la microbiota intestinal de las personas que presentan intolerancia a los carbohidratos y diabetes mellitus 2 (DM2), encontrando que esta diversidad se encuentra inversamente relacionada con que los estados de diabetes mellitus 2, glucosa alterada en ayuno y normogluemia. También se han descrito alteraciones en la proporción de ciertos microorganismos, por ejemplo, la relación Bacteroidetes/Firmicutes, *Bacteroides-Prevotella/Clostridium coccoides-Eubacteria rectale* correlacionan de manera positiva con la concentración de glucosa plasmática. En el 2010, Wu observó disminución significativa de *Bifidobacterias* en un grupo de 16 pacientes con diabetes mellitus tipo 2.²⁷⁻³⁰ Los estudios de metagenoma cuantitativa realizados, han determinado que la microbiota de los sujetos con DM2 tienen alteraciones entre microorganismos productores de butirato. Demostraron en sujetos con DM2 una menor proporción de

Roseburia, *Akkermansia muciniphila* y *Faecalibacterium prausnitzii* (Clostridiales productores de butirato) y mayor de *Haemophilus parainfluenzae* (Clostridiales no productores de butirato); encontraron también la presencia de especies patógenas oportunistas como *Bacteroides caccae*, *Clostridium hathewayi*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium symbiosum*, *Eggerthella lenta*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus gasseri* y *Streptococcus mutans*. Otros hallazgos revelaron incremento de *Bacteroides* y *Prevotella*, con disminución en *Firmicutes* y *Clostridia*.^{27-29,31,32}

Por otro lado, el concepto que relaciona a la MI con el desarrollo de obesidad proviene de estudios realizados en ratones libres de gérmenes (GF), en quienes una dieta rica en lípidos no produce aumento de peso corporal y adiposidad en comparación con los ratones convencionales (CONV-R). Dichos hallazgos se invierten al colonizar a los ratones GF con la MI de los ratones CONV-R.³³ Así mismo se han observado cambios cualitativos. Ley et al, analizó el microbioma de ratones obesos detectando reducción de Bacteroidetes e incremento de Firmicutes en comparación con los No-obesos.³⁴ En humanos, también se han detectado anomalías cualitativas. Se ha descrito que los sujetos obesos presentan un aumento de *Proteobacterias* y *Bacteroidetes*, asociado a una disminución de bacterias antiinflamatorias, como *Akkermansia muciniphila*, y un aumento de bacterias patógenas, como *Campylobacter* y *Shigella*. Estos cambios conducen a una disminución de la producción de butirato, sustancia protectora de la barrera intestinal, así como un mayor potencial de degradación del moco y manejo del estrés oxidativo. Otros cambios reportados en sujetos con sobrepeso/obesidad incluyen reducción de las *Bifidobacterium* y *Bacteroides* e incremento en *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* y *E. coli*.^{24,35,36}

Cuando la MI se encuentra en equilibrio, brinda soporte al huésped, contribuyendo al balance bioquímico, metabólico e inmunológico, mediante la expresión de genes implicados en la regulación de la función intestinal de barrera, la vascularización de la mucosa, desarrollo y regulación de la inmunidad innata y adaptativa, procesos de digestión/absorción de nutrientes, glucosilación de las proteínas y lípidos constituyentes de las membranas celulares de los enterocitos, síntesis de vitaminas, entre otros. Se sabe que el desequilibrio en su composición (disbiosis) está implicado no solo en la patogénesis de los trastornos intestinales, como la enfermedad inflamatoria intestinal y síndrome de intestino irritable; sino también en trastornos extraintestinales que incluyen obesidad, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular.^{7,9,10}

Uso De Probióticos Y Sus Efectos Metabólicos

Ante la evidencia que relaciona la composición de la microbiota intestinal con procesos de salud/enfermedad en el hospedero, en los años recientes se han realizado algunas investigaciones encaminadas a identificar si la modulación de la microbiota intestinal a través de la administración de probióticos mantiene un potencial terapéutico para tratar la epidemia de la obesidad y sus efectos metabólicos.

El término probiótico se deriva del latín, que significa "por la vida". La Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud refieren a los probióticos como cepas vivas de microorganismos que confieren beneficios para la salud de huésped cuando se administra en cantidades adecuadas. Al momento, existe buena evidencia de que cepas específicas de probióticos son seguras para uso humano, además de ser bien tolerados y con pocos o nulos efectos adversos.^{37,38} Su uso aún no se encuentra regulado por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) y se consideran como suplementos alimenticios. El empleo actual esta encaminado a tratar padecimientos gastrointestinales, tales como el síndrome de intestino irritable, diarrea del viajero, enfermedad inflamatoria intestinal o diarrea asociada a uso de antibióticos. Sin embargo, sus efectos en el control del peso corporal y alteraciones metabólicas esta en discusión. Los estudios clínicos realizados han mostrado resultados contradictorios.^{38,39}

En el 2013 Larsen y colaboradores evaluaron el efecto de *Lactobacillus salivarius* Ls-33 en la microbiota intestinal de adolescentes obesos, sus resultados mostraron que *L. salivarius* Ls-33 modifica significativamente la microbiota fecal en adolescentes obesos, sin embargo estos cambios no se relacionaron con cambios en la concentración de AGCC o parámetros del síndrome metabólico.⁴⁰ En cambio Barreto et al. demostraron que la administración de probióticos por 90 días en mujeres postmenopáusicas con síndrome metabólico es capaz de mejorar las cifras de glucosa en ayuno y los niveles de homocisteína sérica en comparación con el grupo control.⁴¹ Otros estudios han mostrado efectos con diversas cepas en distintos parámetros de la composición corporal. En el 2010, Kadooka et al. lograron demostrar que tras la administración de *Lactobacillus gasei* STB 2055 durante 12 semanas se logra obtener una disminución significativa en grasa visceral, subcutánea, grasa total y porcentaje de masa grasa, valorada esta última por tomografía.⁴² Mientras que Sánchez et al. en el 2014 demostraron que la administración de *Lactobacillus rhamnosus* durante 24 semanas es capaz de lograr cambios en los niveles de leptina en comparación con el grupo placebo, con un efecto dependiente del género en el peso corporal y masa grasa con respecto a la basal en el grupo de las mujeres.⁴³ Hasta el momento son pocos los ensayos clínicos que han evaluado los efectos de un compuesto de probióticos sobre parámetros corporales. En 2017 Gomés et al demostró sus efectos en circunferencia de cintura e índice cintura cadera.⁴⁴

Efectos Adversos Atribuidos Al Uso De Probióticos

Con relación a los efectos adversos atribuidos al uso de probióticos algunas series han reportado efectos adversos menores, tales como rash, distensión abdominal y flatulencia.⁴⁵ Hasta el momento se han descrito como raros los efectos adversos mayores que pongan en riesgo la salud de las personas que lo consumen. Estudios epidemiológicos han reportado infección sistémica en 0.05 – 0.40%, causando principalmente sepsis y meningitis.⁴⁶ La presencia de bacteriemia se ha reportado principalmente en neonatos hospitalizados (en su mayoría portadores de enterocolitis necrozante) y con uso de catéter venoso central. Se ha estimado un riesgo menor a 1 por 1 millón de usuarios y de fungemia de 1 por 5.6 millones de usuarios.⁴⁷ Sin embargo, hasta el momento no se ha demostrado que exista translocación hacia la circulación sistémica.

Caracterización De La Comunidad Microbiana

La caracterización de la comunidad microbiana en un bioreactor es fundamental para el entendimiento del proceso. Una de las formas de realizar esta caracterización es mediante el uso de técnicas cultivo-independientes que involucran el análisis de una pequeña parte del genoma, como un gen o una región intergénica específica del DNA. Entre las técnicas se incluyen: genotecas de clonas, electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (DGGE), electroforesis en gel con gradiente de temperatura (TGGE), hibridación fluorescente in situ (FISH), PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR), análisis de espacio intergénico del DNA ribosomal y secuenciación masiva de una genoteca de 16S rDNA, esta última permite revelar la secuencia de millones y potencialmente billones de secuencias simultáneamente.

Secuenciación Masiva Semiconductora De Iones De Una Genoteca De 16S rDNA

El concepto básico de este tipo de secuenciación es realizar una secuenciación mediante síntesis, con una detección electroquímica de la síntesis y cada reacción acoplada a su propio sensor, que a su vez es organizada en un arreglo masivo de sensores en paralelo en un chip. La base de la detección es que el sensor utilizado es capaz de detectar tanto el pirofosfato liberado por la incorporación de la polimerasa, como el ion H⁺ de la incorporación del OH⁻ en la cadena creciente producto químico de la síntesis incorporación de la polimerasa.⁴⁸

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad es una patología de alta prevalencia y de origen multifactorial. Diversos estudios en modelos animales han demostrado que la diversidad de la microbiota intestinal puede alterar la absorción, metabolismo y almacenaje de energía corporal, así como la respuesta inflamatoria y de esta manera contribuir al desarrollo de obesidad, resistencia a la insulina y comorbilidades asociadas.

Los estudios realizados en humanos que existen hasta el momento presentan diferencias metodológicas significativas y con resultados contradictorios. Sin embargo, el uso de probióticos podría ser benéfico al mejorar la disbiosis que presentan los pacientes con obesidad. Este estudio permitirá conocer si la suplementación con probióticos con un perfil No-Obesogénico influye en parámetros de la composición corporal y con esto permitir el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas basadas en la modulación de la microbiota intestinal.

JUSTIFICACIÓN

La obesidad es altamente prevalente y está asociada a diversos trastornos metabólicos. El estándar de cuidado se basa en lograr cambios a un estilo de vida saludable. Sin embargo, lograr los cambios positivos al largo plazo suele ser limitado y desalentador. Se requiere por lo tanto buscar alternativas coadyuvantes eficaces. Estudios experimentales han demostrado que la modificación de la composición de la microbiota intestinal a través de la administración de probióticos, tiene efectos benéficos en el metabolismo de lípidos y carbohidratos.

Hasta el momento no existe evidencia científica suficiente que evidencie los efectos de la administración de probióticos con un perfil "NO-Obesogénico" integrado por diferentes cepas con efectos sinérgicos y que puedan influir de manera más relevante en la composición corporal y parámetros de control glucémico y de resistencia a la insulina, en comparación con las cepas que se han utilizado como monoterapia (una sola cepa).

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Podrá la administración de un compuesto de probióticos con un perfil “No-Obesogénico” conformada por cepas de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium infantis* y *Streptococcus thermophilus* a una dosis de 1×10^{11} unidades formadora de colonias (UFC) por 16 semanas causar mejoría en los parámetros de composición corporal, metabolismo glucémico y de resistencia a la insulina en comparación con placebo en pacientes con obesidad grado II y III incluidos en el programa de intervención de cambios en el estilo de vida de la Clínica de Atención Integral al paciente con Diabetes y Obesidad y esto a su vez en asociación con modificaciones en la diversidad de la microbiota intestinal?

HIPÓTESIS

Si el tratamiento con probióticos es capaz de generar un cambio hacia una flora intestinal No-obesogénica y con esto modificar la composición corporal y el estado metabólico en pacientes con obesidad grado II y III, entonces el tratamiento con un compuesto de probióticos a una dosis de 1×10^{11} UFC al día, por 16 semanas inducirá una diferencia del tamaño del efecto de 0.5 en parámetros de composición corporal, metabolismo glucémico y de resistencia a la insulina tales como masa grasa, grasa visceral, glucosa en ayuno, HOMA-IR, Quicki y Matsuda en comparación con el grupo placebo.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el cambio en los parámetros de composición corporal, metabolismo glucémico y de resistencia a la insulina en pacientes con obesidad grado II y III incluidos en el programa de intervención de cambios en el estilo de vida (PICEV) y tratados de manera adyuvante con un compuesto de probióticos a una dosis de 1×10^{11} UFC por 16 semanas en comparación con un grupo placebo y su asociación con los cambios en la diversidad de la microbiota intestinal.

Objetivos Específicos.

- i. Evaluar los cambios en parámetros de composición corporal (peso, IMC, masa grasa, grasa visceral) medida por bioimpedancia eléctrica de 8 electrodos en pacientes con obesidad grado II y III tratados con un compuesto de probióticos a una dosis de 1×10^{11} UFC por 16 semanas en comparación con el grupo placebo.

- ii. Evaluar los cambios en los parámetros del metabolismo glucémico y de resistencia a la insulina (glucemia e insulinemia de ayuno, glucemia 2 hrs post carga de 75 gr de glucosa anhidra, HA1c, HOMA-IR, MATSUDA y QUICKI) en pacientes con obesidad grado II y III tratados con un compuesto de probióticos a una dosis de 1×10^{11} UFC por 16 semanas en comparación con el grupo placebo.
- iii. Evaluar los cambios en el perfil metabólico (colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos, ácido úrico y leptina) en pacientes con obesidad grado II y III tratados con un compuesto de probióticos a una dosis de 1×10^{11} UFC por 16 semanas en comparación con el grupo placebo.
- iv. Evaluar los cambios en la diversidad de la microbiota intestinal en pacientes con obesidad grado II y III tratados con un compuesto de probióticos a una dosis de 1×10^{11} UFC por 16 semanas en comparación con el grupo placebo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo y Diseño del estudio.

Ensayo clínico, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo.

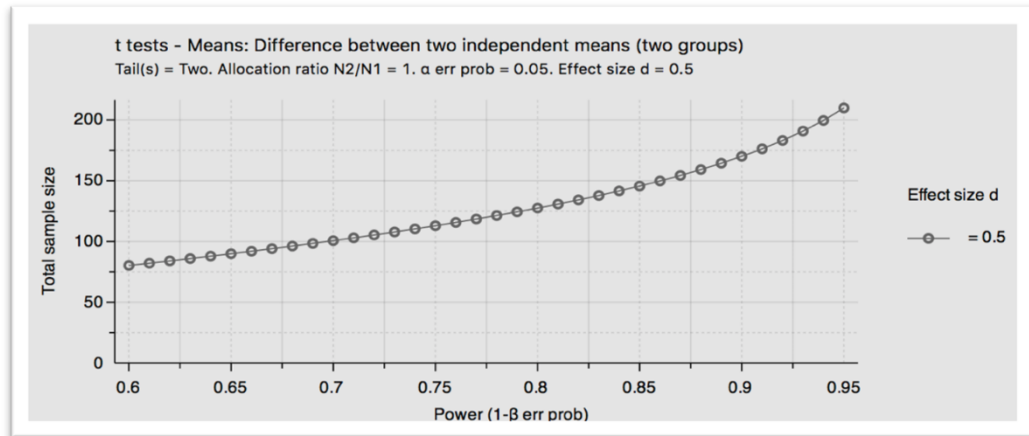
Lugar de Estudio.

Consulta externa de la Clínica de Atención Integral al Paciente con Diabetes y Obesidad (CAIDO) del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga".

Población y Tamaño de la Muestra.

Pacientes adultos con obesidad grado II y III atendidos en la Clínica de Atención Integral al paciente con Diabetes y Obesidad del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga".

Se realizó una revisión de la literatura médica y análisis de las diferentes variables de relacionadas con composición corporal, metabolismo de la glucosa y resistencia a la insulina, determinando a masa grasa como la variable principal.⁴⁶ El cálculo del tamaño de la muestra se elaboró por diferencia de medias a través del programa G*Power 3.1.9.2 con referencia en el estudio de Gomés et al.⁴⁴ se determinó que una d de Cohen de 0.5, error alfa de 0.05, poder del 80 % y 10 % de pérdidas una muestra de 140 participantes (70 por grupo) es capaz de mostrar diferencias entre los grupos.



Criterios de Selección.

i. Criterios de Inclusión.

1. Pacientes adultos de 18 a 64 años, con obesidad grado II y III ($IMC \geq 35 \text{ Kg/m}^2$), que ingresan por primera vez a la Clínica de Atención Integral al paciente con Diabetes y Obesidad del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga” y que no hayan recibido tratamiento previo.
2. Ambos sexos.
3. Firma de consentimiento informado

ii. Criterios de Exclusión.

1. Diabetes Mellitus.
2. Diagnóstico de causas secundarias de obesidad (hipotiroidismo, síndrome de Cushing).
3. Recibir tratamiento farmacológico que afecte metabolismo lipídico o de la glucosa (metformina, estatinas, fibratos, antiinflamatorios esteroideos).
4. Uso de antibióticos de amplio espectro 4 semanas previas.
5. Cambio en el patrón de dieta 4 semanas previas.
6. Alteraciones intestinales que cursen con diarrea o malabsorción (enfermedad inflamatoria intestinal, infección por *C. difficile*, diarrea crónica).

iii. Criterios de Eliminación.

1. Inasistencia a 2 o más de las sesiones programadas.
2. Apego de < del 80% de ingesta del probiótico.
3. Declinación verbal o escrita de la continuación en el estudio.

Definición de Variables.

Variable	Tipo	Unidad de medición	Definición operacional
Edad	Cuantitativa Continua Independiente	Años	Tiempo que a vivido un sujeto desde su nacimiento.
Sexo	Cualitativa Dicotómica	Mujer Hombre	Características fenotípicas femeninas o masculinas.
Tipo de Nacimiento	Cualitativa Independiente	Parto Cesarea Desconoce	Mecanismo por el cual expulsa el feto y la placenta al final de la gestación.
Lactancia materna	Cualitativa Independiente	Si No Desconoce	Alimentación con leche producida en el seno materno.
Actividad Física	Cualitativa Independiente	Leve Media Intensa	Cualquier movimiento corporal producido por los músculos que exija gasto de energía.
Tratamiento	Cualitativa Independiente	PICEV + probióticos PICEV + placebo	Asignación aleatoria a recibir cualquiera de las 2 intervenciones: Programa de intervención de cambios en el estilo de vida asociado a probióticos o placebo.
Peso	Cuantitativa Continua Dependiente	Kg	Medición de peso con báscula de impedanciometría bioeléctrica.
Índice de Masa Corporal (IMC)	Cuantitativa Continua Dependiente	Kg/m ²	Medición de peso con báscula de impedanciometría bioeléctrica, y medición de talla con estadiómetro.
Circunferencia de Cintura	Cuantitativa Continua Dependiente	cm	Perímetro del abdomen en su punto más estrecho entre el borde lateral inferior de la 10ª costilla y la parte superior de la cresta ileca.
Masa grasa	Cuantitativa Continua Dependiente	Kg	Designa la grasa total presente en el cuerpo por impedanciometría bioeléctrica de 8 electrodos, 5 segmentos.
Masa magra	Cuantitativa Continua Dependiente	Kg	Resulta de la diferencia entre el peso y la masa grasa, por impedanciometría bioeléctrica de 8 electrodos, 5 segmentos
Grasa visceral	Cuantitativa Continua Dependiente	Medición en Lts	Grasa corporal ubicada en la cavidad abdominal. Impedanciometría bioeléctrica de 8 electrodos, 5 segmentos
Presión arterial sistólica	Cuantitativa Continua	mmHg	Es la presión que ejerce la sangre contra las paredes de las arterias

	Dependiente		durante la sistole cardiaca Se establece con base en la toma con un esfingmanometro.
Presión arterial diástólica	Cuantitativa Continua Dependiente	mmHg	Es la presion que ejerce la sangre contra las paredes de las arterias durante la diastole cardiaca. Se establece con base en la toma con un esfingmanometro.
Presión arterial media	Cuantitativa Continua Dependiente	mmHg	Es la presion promedio que ejerce la sangre contra las paredes de las arterias durante el ciclo cardiaco. Calculo (PAS- PAD/3)+ PAD.
Glucosa en ayuno	Cuantitativa Continua Dependiente	mg/dL	Cantidad de glucosa presente en la sangre
Insulina en ayuno	Cuantitativa Continua Dependiente	uUI/mL	Cantidad de insulina presente en la sangre
HOMA-IR (Homeostatic Model Assesment)	Cuantitativa Continua Dependiente	-	Índice para cuantificar resistencia a la insulina. Cálculo: (Glucosa x Insulina) / 405.
Quicki	Cuantitativa Continua Dependiente	-	Índice para cuantificar resistencia a la insulina. Cálculo: 1/ (log insulina en ayuno) + (log glucosa en ayuno).
Matsuda-ISI (Insulin Sensitivity Index)	Cuantitativa Continua Dependiente	-	Índice para cuantificar sensibilidad a la insulina Cálculo: 10000/v(glucosa basal x insulina basal)x(media glucosa en la CTOG x media insulina en CTOG).
Colesterol total	Cuantitativa Continua Dependiente	mg/dL	Cantidad de colesterol presente en la sangre.
Colesterol HDL	Cuantitativa Continua Dependiente	mg/dL	Cantidad de lipoproteínas de alta densidad presentes en la sangre.
Colesterol LDL	Cuantitativa Continua Dependiente	mg/dL	Cantidad de lipoproteínas de baja densidad presentes en la sangre.
Triglicéridos	Cuantitativa Continua Dependiente	mg/dL	Cantidad de triglicéridos presentes en la sangre.
Leptina	Cuantitativa Continua Dependiente	ng/mL	Cantidad de leptina de alta densidad presente en la sangre.

Diseño del estudio.

A los participantes que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión se les realizó historia clínica y exploración física completa en búsqueda de datos de resistencia a la insulina como acantosis en cuello, ingles, axilas o zonas de fricción. Se buscaron datos de comorbilidades asociadas. Posteriormente se registraron los siguientes datos:

1. **Parámetros antropométricos:** Se realizó medición de peso corporal, talla, IMC, masa grasa, masa magra, circunferencia de cintura, circunferencia de cadera y relación cintura/cadera. Para realizar este análisis se utilizó un analizador de composición corporal SECA mBCA 515 con impedanciómetro bioeléctrico de 8 Puntos. Las cifras tensionales se midieron con un esfigmomanómetro anerode Riester.
2. **Parámetros bioquímicos:** A los participantes se les canalizó un acceso venoso periférico para la toma de muestras sanguíneas. Se tomaron muestras basales de sangre periférica venosa con ayuno de 12 horas para la determinación de glucosa, insulina, ácido úrico, colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDL) lipoproteínas de baja densidad (LDL), hemoglobina glucosilada, insulina y leptina. Se realizó una prueba de tolerancia oral a la glucosa con 75 gr de glucosa anhidra y se calcularon índices subrogados de sensibilidad y resistencia a la insulina para determinar las condiciones de tolerancia a la glucosa en cada paciente mediante las siguientes fórmulas como MATSUDA, HOMA-IR y Quicki y con base a los criterios de la ADA.
 - HOMA-IR: $\text{Insulina en ayuno (uUI/mL)} \times \text{glucosa en ayuno (mg/dL)} / 405$.
 - Quicki: $1 / (\log \text{ insulina en ayuno}) + (\log \text{ glucosa en ayuno})$.
 - Matsuda: $10000 / \sqrt{(\text{glucosa basal} \times \text{insulina basal}) \times (\text{media glucosa en la CTOG} \times \text{media insulina en CTOG})}$.
3. **Valoración del patrón dietético y actividad física:** Personal especializado en nutrición realizó una evaluación de los hábitos dietéticos utilizando métodos de recordatorio dietético de 24 horas, de entre semana y fines de semana. Se caracterizó el tipo de alimentación en macronutrientes y el número de calorías ingeridas a través de software SNUT 3.0. El apego al régimen dietético se realizó con el software Food Processor Nutrition Analysis en las citas de seguimiento.

En cuanto a la actividad física se aplicó el cuestionario internacional de actividad física (IPAQ) el cuál mide el nivel de actividad en 5 dominios (trabajo, transporte, trabajo de la casa, actividades de recreación y tiempo a estar sentado) a través de 27 preguntas (Anexo 1). Este instrumento nos permitió calcular los equivalentes metabólicos METs-minutos-semana y clasificar el nivel de actividad física en baja, media o alta de acuerdo con lo siguiente:

- **Baja:** No registra actividad física o la registra, pero no alcanza las categorías media o alta.
 - **Media:** Se consideró cuando se cumplieron los siguientes criterios:
 - ≥ 3 días de actividad física vigorosa por lo menos 20 min por día.
 - ≥ 5 días de actividad física moderada o caminar por lo menos 30 min.
 - ≥ 5 días de cualquier combinación de actividad física leve, moderada o vigorosa que alcance un registro de 600 METs-min-semana.
 - **Alta:** Se consideró si se cumplieron los siguientes criterios:
 - ≥ 3 días o más de actividad física vigorosa o que acumulen 1 500 METs-min-semana.
 - ≥ 7 días de cualquier combinación de actividad física leve, moderada o vigorosa que alcance un registro de 3 000 METs-min-semana.
4. Se realizó una prueba de caminata de 6 min para evaluar la capacidad funcional para realizar actividad física. Se calcularon los metros caminados y los valores de referencia para cada participante mediante las ecuaciones de Troosters y Enright.
- **Troosters:**
 - Hombre: $218 + (5.14 \times \text{tallacm} - 5.32 \times \text{edadaños}) - (1.8 \times \text{pesokg} + 51.31)$
 - Mujer: $218 + (5.14 \times \text{tallacm} - 5.32 \times \text{edadaños}) - (1.8 \times \text{pesokg})$
 - **Enright:**
 - Hombre: $(7.57 \times \text{tallacm}) - (5.02 \times \text{edadaños}) - (1.76 \times \text{pesokg}) - 309$
 - Mujer: $(2.11 \times \text{tallacm}) - (5.78 \times \text{edadaños}) - (2.29 \times \text{pesokg}) + 667$
5. **Análisis de la microbiota fecal.** A cada uno de los participantes se le otorgó el material necesario y un instructivo para recolectar la muestra de heces la cual fue almacenada en refrigeración hasta ser entregada (Anexo 2). Esta muestra fue tomada en condiciones basales y al final de la intervención.

Extracción copro DNA: Se hará extracción de DNA de cada muestra de copro utilizando QiaAmp Stool DNA kit (Qiagen). El DNA extraído se cuantificará por absorbancia 260/280 en Nanodrop y analizará por fraccionamiento electroforético en 0.5% agarosa.

Preparación y secuenciación de genoteca de amplicones 16S rDNA: El copro DNA extraído será usado para preparar las genotecas de la región polimórfica V3-16S rDNA de bacterias por PCR punto final para cada individuo participante. La secuenciación se realizará por tecnología semiconductora de iones en equipo PGM Ion Torrent. Los archivos con los datos de secuenciación serán depurados, seguidos de un análisis por homología de secuencia para conocer la riqueza y la abundancia de las bacterias utilizando la línea de procesos QIIME.

6. **Programa de intervención de cambios a un estilo de vida saludable (PICEV).** A cada sujeto se le asignó un plan de alimentación equilibrado de acuerdo con requerimientos y grado de actividad física; limitando la ingesta calórica de 20 a 25 kcal/kg, según el peso del sujeto, también fueron instruidos para mantener su programa de ejercicio habitual durante todo el estudio.

7. **Aleatorización.** Posterior a la realización del protocolo basal de estudios antropométricos, clínicos, bioquímicos y de diversidad de la microbiota, los pacientes serán asignados en forma aleatoria a recibir cualquiera de los dos tratamientos. Para esto, se utilizó una tabla de números aleatorios con el programa Excel versión 2016 para Mac. Se refieren ambos tipos de tratamiento como A y B, de los cuales uno corresponde a placebo y el otro a probióticos. El cegado del estudio será conservado por el fabricante (Italmex), quienes lo abrirán una vez que se haya concluido el tratamiento del último paciente reclutado.

NÚMERO DE PACIENTE	GRUPO
1	B
2	B
3	B
4	A
5	A
6	B
7	B
8	B
9	B

10	B
11	B
12	A
13	B
14	A
15	B
16	A
17	A
18	B
19	A
20	B

21	A
22	B
23	A
24	A
25	B
26	A
27	A
28	B
29	A
30	B
31	B

32	B
33	B
34	A
35	A
36	A
37	B
38	A
39	B
40	A
41	A
42	B
43	B
44	A
45	A
46	A
47	B
48	A
49	B
50	A
51	B
52	B
53	B
54	A
55	A
56	B
57	A
58	A
59	B
60	B
61	A
62	B
63	A
64	A
65	A
66	A
67	A
68	B

69	B
70	A
71	A
72	A
73	B
74	A
75	A
76	B
77	A
78	A
79	B
80	B
81	A
82	B
83	B
84	B
85	B
86	A
87	A
88	A
89	A
90	B
91	B
92	A
93	B
94	A
95	A
96	B
97	B
98	B
99	A
100	A
101	B
102	A
103	B
104	B
105	A

106	B
107	A
108	A
109	B
110	B
111	B
112	B
113	A
114	B
115	A
116	B
117	A
118	A
119	B
120	B
121	B
122	A
123	A
124	A
125	B
126	B
127	A
128	A
129	A
130	B
131	A
132	A
133	A
134	B
135	A
136	B
137	B
138	A
139	A
140	A

8. **Seguimiento.** Los participantes fueron valorados cada 4 semanas durante la intervención (5 visitas en total) en donde se monitorizó el apego a tratamiento tanto dietético como farmacológico. Se valoraron los parámetros antropométricos referidos y se brindaron recomendaciones para mantener apego al tratamiento. En las visita 1 y 5 además de lo referido, se tomaron muestras de sangre venosa periférica de 12 horas de ayuno y muestra de heces para su estudio. En la figura 1 se muestra el diseño general del estudio.

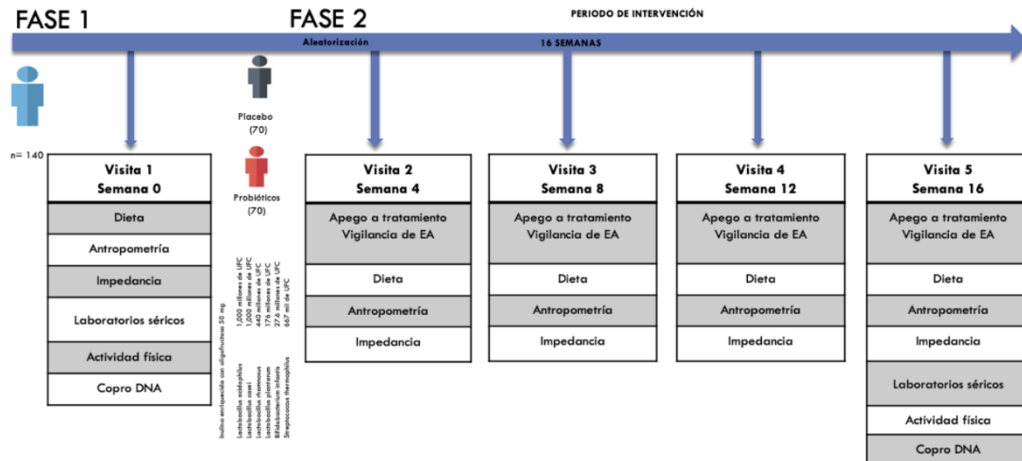


Figura 1. Diseño General del Estudio

9. **Efectos adversos atribuidos al uso de probióticos:** Durante el transcurso del periodo de intervención se vigiló la presencia de efectos adversos al tratamiento. En cada una de las visitas se realizó un registro en caso de presentarse.
10. **Análisis estadístico:** La captura de los datos se realizó en el programa excel, la cual fue revisada y validada por un tercero para descartar errores en la captura. Posteriormente la información se exporto al programa SPSS statistics 25.0 para Mac.

Se analizó la distribución de las variables utilizando la prueba test de Shapiro Wilk. Las características basales de la población se presentan en medias con desviación estándar para variables con distribución normal y medianas con rango intercuartil para variables de distribución no normal.

Se realizó estadística paramétrica y no paramétrica dependiendo de la distribución de las variables. Se utilizó U de Mann-Whitney/T-student para las variables cuantitativas continuas y χ^2 para las variables nominales. Para las comparaciones intragrupo se utilizó la prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas. En la comparación entre ambos grupos de tratamiento un modelo lineal general (GLM) para controlar el efecto de variables confusoras o modificadoras. Los datos se considerarán como significativos cuando el valor de $p < 0.05$. Para el análisis de los datos se utilizará el programa SPSS versión 24.0.

11. Aspectos éticos y de bioseguridad. El protocolo fue aprobado por el comité de ética en investigación el 10 de octubre de 2017 y otorgaron el número de aprobación **DI/17/310A/3/079**. El protocolo se encuentra registrado en la plataforma ClinicalTrials.gov con el siguiente número de registro **NCT040861173**.

RESULTADOS:

Se incluyeron un total de 93 pacientes, de los cuales 47 (50.5%) completaron el estudio y de los cuales se realizó el análisis estadístico. Cabe señalar que todos han recibido el estándar de tratamiento al incluirse en un programa de intervención de cambios en el estilo de vida (PICEV) durante 16 semanas. De ellos, 25 pacientes fueron incluidos en el grupo de tratamiento con probióticos y 22 al grupo placebo. La disposición de los participantes se muestra en la Figura 2.

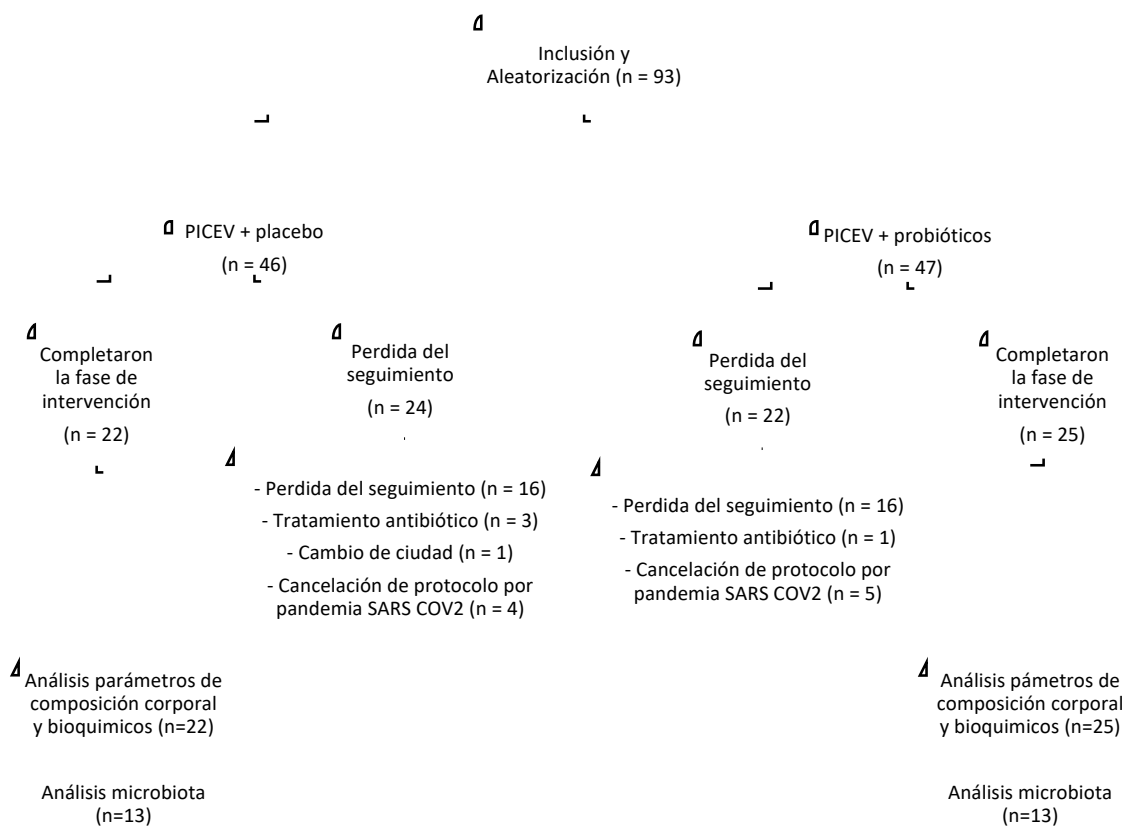


Figura 2. Disposición de los participantes en el estudio.

Características basales de la población.

En el análisis de las características basales de la población, se observó que a pesar de la aleatorización hay diferencias significativas entre los grupos de tratamiento en edad e índice cintura/cadera (ICC). Siendo el grupo PICEV + placebo con una edad promedio de 37.5 ± 9.0 años más joven que el grupo PICEV + probióticos (44.1 ± 11.4 años). En cuanto al ICC se encontró que es discretamente menor en el grupo PICEV + probióticos en comparación con el grupo PICEV + placebo (0.88 ± 0.13 vs 0.94 ± 0.10 ; $p = 0.009$).

El resto de las variables demográficas, antropométricas y bioquímicas son comparables entre los grupos. En la tabla 1 se resumen las características basales de la población de estudio.

Tabla 1. Características basales de la población			
Característica	PICEV + probióticos (n= 25)	PICEV + placebo (n=22)	p
Edad ^a – años	44.1 (\pm 11.4)	37.7 (\pm 9.0)	*0.042
Sexo			
Femenino – # (%)	17 (68.0)	14 (63.3)	0.755
Masculino – # (%)	8 (32.0)	8 (36.4)	
Tipo de Nacimiento			
Parto – # (%)	21 (84.0)	20 (90.9)	0.479
Cesárea – # (%)	4 (16.0)	2 (9.1)	
Lactancia			
Si – # (%)	23 (92.0)	18 (81.8)	0.152
No – # (%)	0 (0)	3 (13.6)	
Desconoce – # (%)	2 (8.0)	1 (4.5)	
Grado de obesidad			
2 – # (%)	8 (32)	10 (45.5)	0.344
3 – # (%)	17 (68)	12 (54.5)	
Actividad física			
Baja – # (%)	11 (44.0)	6 (27.3)	0.318
Media – # (%)	13 (52.0)	13 (59.1)	
Alta – # (%)	1 (4.0)	3 (13.6)	
Presión arterial			
Sistólica ^b – mmHg	120.0 (\pm 20.0)	120.0 (\pm 20.0)	0.561
Diastólica ^b – mmHg	80.0 (\pm 17.5)	80.0 (\pm 20.0)	0.494
Media ^b – mmHg	93.3 (\pm 13.7)	91.6 (\pm 16.7)	0.459
Parámetros antropométricos			
Peso ^b – Kg	102.9 (\pm 34.6)	112.4 (\pm 33.3)	0.348
IMC ^b – Kg/mts ²	42.3 (\pm 8.3)	41.1 (\pm 6.6)	0.815
Circunferencia de cintura ^b – cm	117.0 (\pm 23.0)	120.0 (\pm 16.2)	0.306
ICC ^b – cm/cm	0.88 (\pm 0.13)	0.94 (\pm 0.10)	*0.009
Análisis de bioimpedancia			
Masa grasa ^b – Kg	53.5 (\pm 14.7)	53.6 (\pm 15.1)	0.749
Masa magra ^b – Kg	51.7 (\pm 21.4)	59.1 (\pm 25.3)	0.068
Grasa visceral ^b – Lts	4.6 (\pm 6.3)	5.4 (\pm 4.8)	0.348

Control glucémico			
Glucosa en ayuno ^b – mg/dL	92.0 (± 21)	92.5 (± 25)	0.898
Glucosa 2 hrs postprandial ^b – mg/dL	117.0 (± 52)	129.5 (± 43)	1.000
Insulina en ayuno ^b – uIU/mL	14.0 (± 9.4)	17.8 (± 13.0)	0.311
HOMA ^b	3.1 (± 2.6)	4.4 (± 4.1)	0.263
Quicky ^a	0.32 (± 0.02)	0.31 (± 0.02)	0.435
Matsuda ^b	2.1 (± 1.8)	2.0 (± 1.7)	0.277
Hemoglobina glucosilada ^b – %	5.8 (± 0.4)	5.8 (± 0.8)	0.449
Parámetros bioquímicos			
Ácido úrico ^a – mg/dL	6.2 (± 1.6)	6.9 (± 1.9)	0.177
Triglicéridos ^b – mg/dL	134.0 (± 75)	151.0 (± 49)	0.449
Colesterol total ^a – mg/dL	179.4 (± 24.1)	173.4 (± 31.0)	0.461
Colesterol HDL ^a – mg/dL	43.4 (± 11.5)	40.6 (± 6.9)	0.317
Colesterol LDL ^a – mg/dL	113.0 (± 22.2)	108.5 (± 23.8)	0.502
Leptina ^a – ng/mL	19.6 (± 9.8)	17.1 (± 8.4)	0.352
Abreviaturas: IMC: Índice de masa corporal, ICC: Índice cintura/cadera, HOMA: Evaluación del modelo homeostático (Homeostasis model assessment), HDL: Lipoproteína de alta densidad, LDL: Lipoproteína de baja densidad. ^a Los datos son presentados en media con desviación estándar. ^b Los datos son presentados en mediana con rango intercuartil. La valoración para las diferencias entre los grupos se realizó a través de la prueba Chi ² para evaluar la diferencias en porcentajes, T-student para muestras independientes para variables continuas de distribución normal y U de Mann-Whitney para variables continuas de distribución no normal. * significancia estadística con p ≤0.05			

Efectos del tratamiento en parámetros de composición corporal y presión arterial.

El análisis intragrupo de las variables de composición corporal antes y después del tratamiento mostró que ambos grupos de tratamiento (PICEV + placebo y PICEV + probióticos) presentaron una reducción significativa en peso corporal, IMC, circunferencia de cintura, masa grasa, PAS, PAD y PAM (Tabla 2).

En lo relacionado al peso corporal se observó una reducción en ambos grupos de tratamiento, sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los grupos al final del periodo de intervención (PICEV + placebo: 109.3 ± 0.93, PICEV + probióticos: 109.4 ± 0.83; p= 0.587). Con respecto a los cambios en masa grasa, la diferencia entre los grupos (PICEV + placebo: 52.0 ± 0.81, PICEV + probióticos: 51.0 (± 0.73) no fue significativa. El efecto en el resto de las todas las variables de composición corporal y presión arterial se resumen en la tabla 3.

Tabla 2. Cambios en parámetros de composición corporal y presión arterial en ambos grupos antes y después del tratamiento.

Variable	PICEV + placebo (n= 22)				PICEV + probióticos (n=25)			
	Basal	Semana 16	Δ	p ^a	Basal	Semana 16	Δ	p ^b
Peso – Kg	112.4 (± 33.3)	105.8 (± 27.3)	- 6.60	*0.000	102.9 (± 34.6)	97.5 (± 34.8)	- 5.40	*0.000
IMC – Kg/mts ²	41.1 (± 6.6)	39.4 (± 6.6)	- 1.70	*0.000	42.3 (± 8.3)	40.6 (± 6.6)	- 1.70	*0.000
C. Cint – cm	120.0 (± 16.2)	115.2 (± 13.3)	- 4.80	*0.001	117.0 (± 23.0)	110.0 (± 24.0)	- 7.00	*0.001
ICC	0.94 (± 0.10)	0.93 (± 0.11)	- 0.01	0.085	0.88 (± 0.13)	0.88 (± 0.13)	0.00	0.069
M. Grasa – Kg	53.6 (± 15.1)	49.8 (± 15.6)	- 3.80	*0.001	53.5 (± 14.7)	49.3 (± 15.3)	- 4.20	*0.000
M. Magra– Kg	59.1 (± 25.3)	56.7 (± 22.1)	- 2.40	*0.003	51.7 (± 21.4)	51.8 (± 20.2)	0.10	*0.019
G. Visc– Lts	5.4 (± 4.8)	4.9 (± 3.4)	- 0.50	*0.023	4.6 (± 6.3)	4.6 (± 5.3)	0.00	*0.005
PAS – mmHg	120.0 (± 20.0)	110.0 (± 13.0)	- 10.00	*0.017	120.0 (± 20.0)	110.0 (± 20.0)	- 10.00	*0.002
PAD – mmHg	80.0 (± 20.0)	70.0 (± 20.0)	- 10.00	*0.033	80.0 (± 17.5)	70.0 (± 20.0)	- 10.00	*0.001
PAM – mmHg	91.6 (± 16.7)	83.3 (± 14.1)	- 8.30	*0.023	93.3 (± 13.7)	83.3 (± 18.3)	- 10.00	*0.001

Abreviaturas: PICEV (programa de intervención de cambios en el estilo de vida), IMC: Índice de masa corporal, C. Cint: Circunferencia de cintura, ICC: Índice cintura/cadera, M. Grasa: Masa grasa, M. Magra: Masa magra, G. Visc: Grasa visceral, PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica, PAM: Presión arterial media
 Los datos son presentados en mediana con rango intercuartil (± RIQ)
 p^a Valor obtenido a través de la prueba Wilcoxon para muestras relacionadas, para valorar las diferencias intragrupo antes y después del tratamiento PECEV + probióticos.
 p^b Valor obtenido a través de la prueba Wilcoxon para muestras relacionadas, para valorar las diferencias intragrupo antes y después del tratamiento PECEV + placebo.
 * significancia estadística con p ≤0.05

Tabla 3. Efectos de la intervención en parámetros de composición corporal y presión arterial a 16 semanas de tratamiento entre los grupos.

Variable	PICEV + placebo (n=22)	PICEV + probióticos (n= 25)	Δ	p ^c
	Semana 16	Semana 16		
Peso – Kg	109.3 (± 0.93)	109.4 (± 0.83)	0.10	0.587
IMC – Kg/mts ²	40.96 (± 0.34)	40.97 (± 0.31)	0.01	0.697
C. Cint – cm	117.8 (± 92)	117.2 (± 0.82)	-0.60	0.687
ICC	0.911 (± 0.01)	0.914 (± 0.01)	0.003	0.150
M. Grasa – Kg	52.0 (± 0.81)	51.0 (± 0.73)	-1.00	0.652
M. Magra– Kg	57.5 (± 0.40)	58.3 (± 0.35)	0.80	0.202
G. Visc– Lts	5.9 (± 0.17)	6.1 (± 0.15)	0.20	0.553
PAS – mmHg	116.3 (± 2.4)	111.6 (± 2.2)	-4.70	0.488
PAD – mmHg	75.5 (± 2.0)	71.2 (± 1.8)	-4.30	0.584
PAM – mmHg	89.0 (± 2.9)	84.7 (± 1.8)	-4.30	0.440

Los resultados están expresados en medias aritméticas con error estándar.
 p^c Valor obtenido a través de la prueba GLM para valorar las diferencias estadísticas entre los tratamientos (PICEV + probióticos VS PICEV + placebo) al final del periodo de intervención. La prueba de GLM se examinó con ajuste para observación inicial, edad (valores totales), apego dietético (valores totales) y actividad física (COD IPAQ5)
 * significancia estadística con p ≤0.05

Efectos sobre parámetros de control glucémico.

Los pacientes incluidos en el grupo PICEV + probióticos mostraron una reducción significativa tras 16 semanas de tratamiento en insulina en ayuno (14.0 ± 9.4 vs 12.0 ± 9.0 , $p= 0.016$) y el índice HOMA (3.1 ± 2.6 vs 2.5 ± 2.1 , $p= 0.021$). A diferencia del grupo PICEV + placebo, quienes tuvieron diferencias significativas en glucosa plasmática 2 hrs posteriores a una carga de glucosa anhidra (129.5 ± 43 vs 111.5 ± 52 , $p= 0.025$), índice matsuda (2.0 ± 1.7 vs 2.7 ± 2.46 , $p= 0.026$) y hemoglobina glucosilada (5.8 ± 0.8 vs 5.6 ± 0.5 , $p= 0.017$). Cuando se comparan ambos grupos de tratamiento se observan diferencias en glucosa en ayuno (PICEV + placebo: 91.1 ± 1.9 , PICEV + probióticos: 91.5 ± 1.8 ; $p= 0.000$) y hemoglobina glucosilada (PICEV + placebo: 5.79 ± 0.05 , PICEV + probióticos: 5.74 ± 0.04 ; $p= 0.000$) como se muestra en la tabla 4 y 5.

Tabla 4. Cambios en parámetros de control glucémico en ambos grupos antes y después del tratamiento.								
Variable	PICEV + placebo (n= 22)				PICEV + probióticos (n=25)			
	Basal	Semana 16	Δ	p ^a	Basal	Semana 16	Δ	p ^b
Glucosa en ayuno – mg/dL	92.5 (± 25)	89.0 (± 13)	-3.50	0.570	92.0 (± 21)	89.0 (± 19)	-3.00	0.563
Glucosa 2 hrs – mg/dL	129.5 (± 43)	111.5 (± 52)	-18.00	*0.025	117.0 (± 52)	127.0 (± 41)	10.00	0.704
Insulina en ayuno – uIU/mL	17.8 (± 13.0)	13.2 (± 16.4)	-4.60	0.236	14.0 (± 9.4)	12.0 (± 9.0)	-2.00	*0.016
HOMA	4.4 (± 4.1)	2.9 (± 3.8)	-1.50	0.236	3.1 (± 2.6)	2.5 (± 2.1)	-0.60	*0.021
Quicky	0.31 (± 0.05)	0.32 (± 0.04)	0.01	0.538	0.32 (± 0.04)	0.33 (± 0.04)	0.01	0.060
Matsuda	2.0 (± 1.7)	2.7 (± 2.46)	0.70	*0.026	2.1 (± 1.8)	3.1 (± 2.22)	1.00	0.175
Hemoglobina glucosilada – %	5.8 (± 0.8)	5.6 (± 0.5)	-0.20	*0.017	5.8 (± 0.4)	5.7 (± 0.5)	-0.10	0.136

Abreviaturas: PICEV (programa de intervención de cambios en el estilo de vida), Glucosa 2hrPP: Glucosa 2 horas posteriores a una carga de 75 gr de glucosa anhidra.
 Los datos son presentados en mediana con rango intercuartil (± RIQ)
 p^a Valor obtenido a través de la prueba Wilcoxon para muestras relacionadas, para valorar las diferencias intragrupo antes y después del tratamiento PICEV + probióticos.
 p^b Valor obtenido a través de la prueba Wilcoxon para muestras relacionadas, para valorar las diferencias intragrupo antes y después del tratamiento PICEV + placebo.
 * significancia estadística con $p \leq 0.05$

Tabla 5. Efectos de la intervención en parámetros de control glucémico a 16 semanas de tratamiento entre los grupos.

Variable	PICEV + placebo (n=22)	PECEV + probióticos (n= 25)	Δ	p ^c
	Semana 16	Semana 16		
Glucosa en ayuno – mg/dL	91.1 (± 1.9)	91.5 (± 1.8)	0.4	*0.000
Glucosa 2 hrs – mg/dL	125.1 (± 5.7)	128.2 (± 5.1)	3.1	0.218
Insulina en ayuno – uIU/mL	15.7 (± 1.2)	12.5 (± 1.1)	-3.2	0.975
HOMA	3.7 (± 0.31)	2.8 (± 0.28)	-0.9	0.775
Quicky	0.32 (± 0.005)	0.33 (± 0.004)	0.01	0.031
Matsuda	3.13 (± 0.25)	3.17 (± 0.23)	0.04	0.904
Hemoglobina glucosilada – %	5.79 (±0.05)	5.74 (± 0.04)	-0.05	*0.002

Los resultados están expresados en medias aritméticas con error estándar.

p^c Valor obtenido a través de la prueba GLM para valorar las diferencias estadísticas entre los tratamientos (PICEV + probióticos VS PICEV + placebo) al final del periodo de intervención. La prueba de GLM se examinó con ajuste para observación inicial, edad (valores totales), apego dietético (valores totales) y actividad física (COD IPAQ5)

* significancia estadística con p ≤0.05

Efectos sobre parámetros bioquímicos

Con respecto a los cambios a través del tiempo en las cifras de colesterol total, el grupo PICEV + probióticos mostro reducción significativa (182.0 ± 33 vs 167.0 ± 40 , $p= 0.004$), mientras que el grupo PICEV + placebo presento reducción no significativa de sus cifras (168.5 ± 40 vs 162.0 ± 31 , $p= 0.205$). En el análisis intergrupar se evidencio la diferencia entre ellos (169.0 ± 3.2 vs 164.6 ± 2.8 , $p=0.034$).

Por otra parte, los niveles de colesterol LDL mostraron una reducción en el grupo PICEV + probióticos. Mientras que el grupo PICEV + placebo presento diferencias en los niveles de ácido úrico, sin que se demostraran cambios entre los grupos de tratamiento al finalizar el periodo de intervención (Tabla 6 y 7).

Tabla 6. Cambios en parámetros de bioquímicos en ambos grupos antes y después del tratamiento.

Variable	PICEV + placebo (n= 22)				PICEV + probióticos (n=25)			
	Basal	Semana 16	Δ	p ^a	Basal	Semana 16	Δ	p ^b
Ácido úrico – mg/dL	6.9 (± 3.2)	5.8 (± 2.3)	-1.10	*0.000	5.7 (± 2.2)	6.1 (± 1.9)	0.40	0.375
Triglicéridos – mg/dL	151.0 (± 49)	116.0 (± 98)	-35.00	0.063	134.0 (± 75)	128.0 (± 58)	-6.00	0.360
Colesterol total – mg/dL	168.5 (± 40)	162.0 (± 31)	-6.50	0.205	182.0 (± 33)	167.0 (± 40)	-15.00	*0.004
Colesterol HDL – mg/dL	38.5 (± 10.5)	39.5 (± 9.0)	1.00	0.276	41.0 (21.0)	39.6 (± 16.0)	-1.40	0.361
Colesterol LDL – mg/dL	103.5 (± 34.0)	101.0 (± 26.2)	-2.50	0.236	114.0 (± 37.3)	99.9 (± 27.8)	-14.10	*0.004
Leptina – ng/mL	18.1 (± 9.4)	15.1 (± 9.9)	-3.00	0.390	17.7 (± 14.1)	17.0 (± 12.1)	-0.70	0.054

Abreviaturas: PICEV (programa de intervención de cambios en el estilo de vida).

Los datos son presentados en mediana con rango intercuartil (± RIQ)

p^a Valor obtenido a través de la prueba Wilcoxon para muestras relacionadas, para valorar las diferencias intragrupo antes y después del tratamiento PICEV + probióticos.

p^b Valor obtenido a través de la prueba Wilcoxon para muestras relacionadas, para valorar las diferencias intragrupo antes y después del tratamiento PICEV + placebo.

* significancia estadística con p ≤0.05

Tabla 7. Efectos de la intervención en parámetros de bioquímicos a 16 semanas de tratamiento entre los grupos.

Variable	PICEV + placebo (n=22)	PICEV + probióticos (n= 25)	Δ	p ^c
	Semana 16	Semana 16		
Ácido úrico – mg/dL	5.7 (± 0.20)	6.3 (± 0.17)	0.6	0.750
Triglicéridos – mg/dL	140.0 (± 9.5)	138.0 (± 8.4)	-2.0	0.874
Colesterol total – mg/dL	169.0 (± 3.2)	164.6 (± 2.8)	-4.4	*0.034
Colesterol HDL – mg/dL	40.1 (± 1.2)	40.4 (± 1.0)	0.3	0.882
Colesterol LDL – mg/dL	104.4 (± 2.9)	100.6 (± 2.6)	-3.8	0.129
Leptina – ng/mL	18.9 (± 1.3)	17.2 (± 1.0)	-1.7	0.106

Los resultados están expresados en medias aritméticas con error estándar.

p^c Valor obtenido a través de la prueba GLM para valorar las diferencias estadísticas entre los tratamientos (PICEV + probióticos VS PICEV + placebo) al final del periodo de intervención. La prueba de GLM se examinó con ajuste para observación inicial, edad (valores totales), apego dietético (valores totales) y actividad física (COD IPAQ5)

* significancia estadística con p ≤0.05

Efectos sobre la microbiota intestinal

Para el estudio de la microbiota intestinal se analizaron 26 muestras fecales recolectadas antes del tratamiento (n = 26; grupo placebo = 13, tratamiento = 13) y 26 muestras después del periodo de intervención (n = 26; grupo placebo = 13, tratamiento = 13). Con respecto del análisis pretratamiento el número de genes en la muestra total del estudio mostró un promedio de 84 328.23 lecturas con un mínimo de 7 186 y un máximo de 221 244 lecturas, las cuales no mostraron diferencias entre los grupos. No se observaron cambios significativos en la abundancia bacteriana después de la administración del un compuesto de probióticos por 16 semanas.

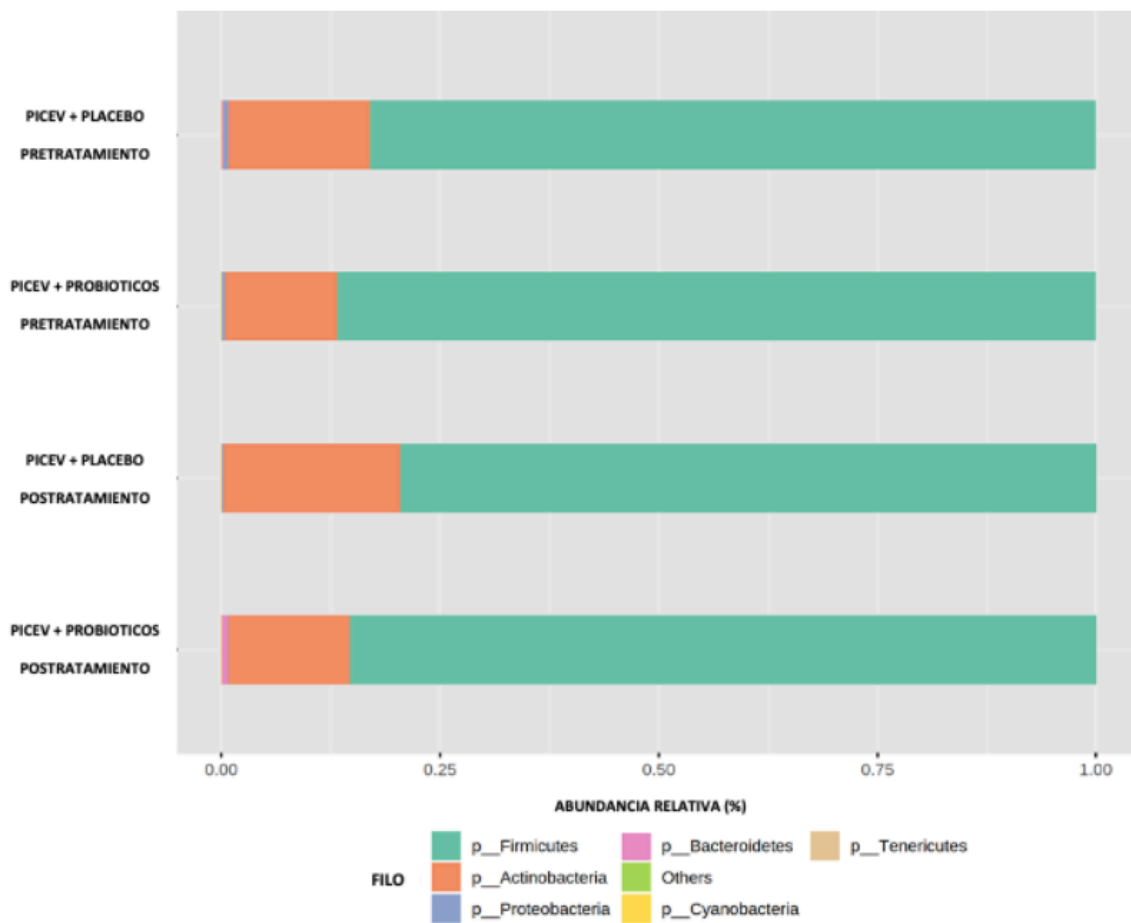


Figura 3. Abundancia relativa de los filotipos bacterianos antes y después de tratamiento en ambos grupos (%).

Los cambios en los parámetros de composición corporal no mostraron correlación con los cambios en la microbiota intestinal de los pacientes en ambos grupos de tratamiento el final del periodo de intervención.

Respecto de los parámetros de composición corporal, en el grupo PICEV + placebo se observó que peso corporal, masa grasa y grasa visceral presenta correlación positiva con *Streptococcus*. Por el contrario, en el grupo PICEV + probióticos se identificó una correlación negativa en masa grasa, presión arterial diastólica y *Bacteroides*. A su vez *Christensenellaceae* mostró correlación negativa con los niveles de presión arterial sistólica.

En relación con los parámetros de control glucémico, el grupo PICEV + placebo mostró una correlación negativa con *Parabacteroides*. Mientras que el grupo PICEV + probióticos identificó una correlación negativa entre *Allobaculum* y los índices Matsuda y Quicki.

Las mejorías en los niveles del colesterol total y colesterol LDL en el grupo PICEV + probióticos se correlacionaron de manera negativa con *Acidobacteria Elin*. Por otra parte estos mismos parámetros se correlacionaron de manera positiva con *Actinomycetae*. Figura 4 y 5.

EFFECTOS DEL TRATAMIENTO CON PROBIÓTICOS EN LA MICROBIOTA INTESTINAL DEL PACIENTE ADULTO CON OBESIDAD GRADO II Y III Y SUS EFECTOS SOBRE EL CONTROL METABÓLICO.

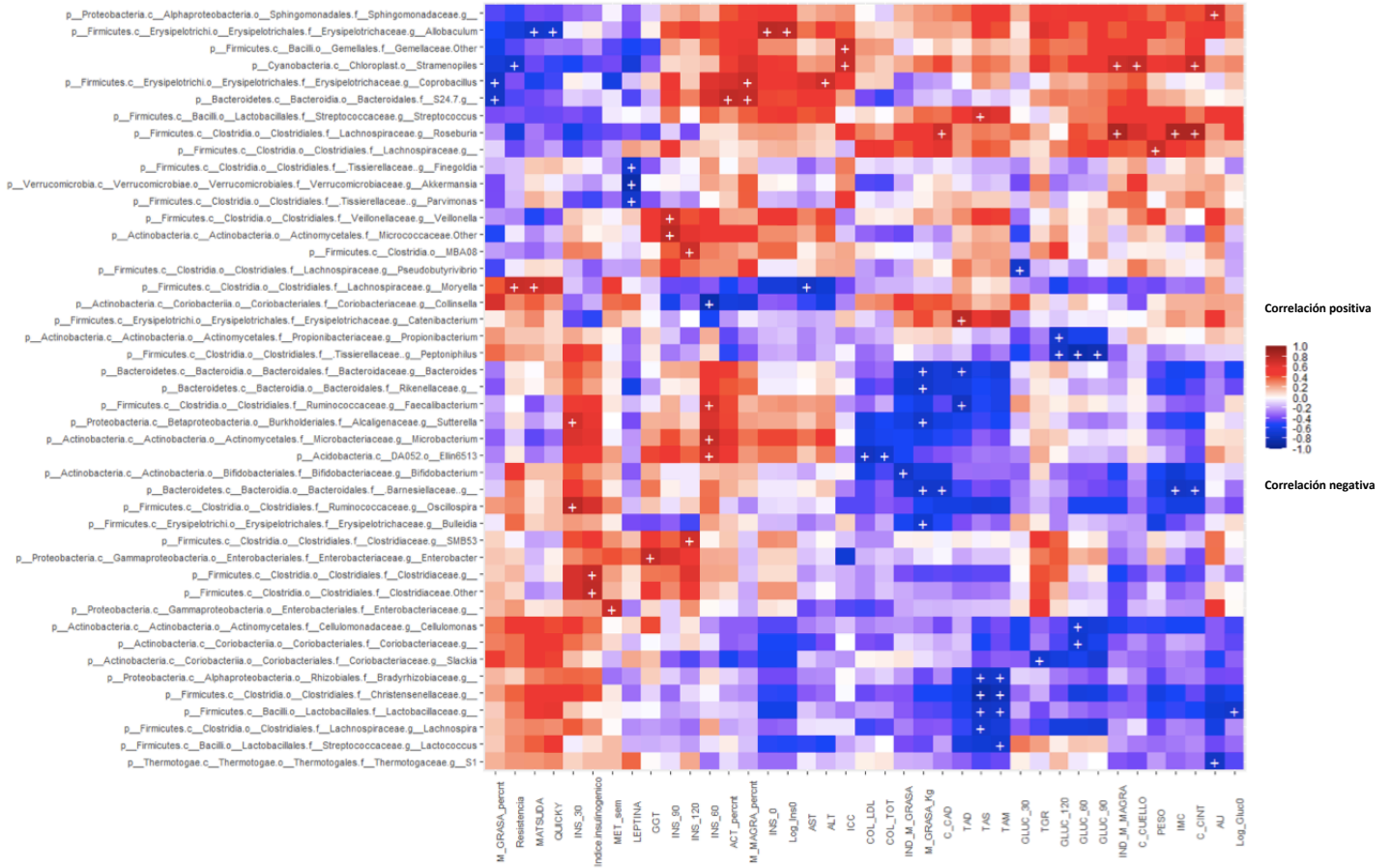


Figura 4. Correlación entre la microbiota intestinal y parámetros de composición corporal, control glucémico y parámetros bioquímicos después de 16 semanas de tratamiento en el grupo PICEV + Probióticos

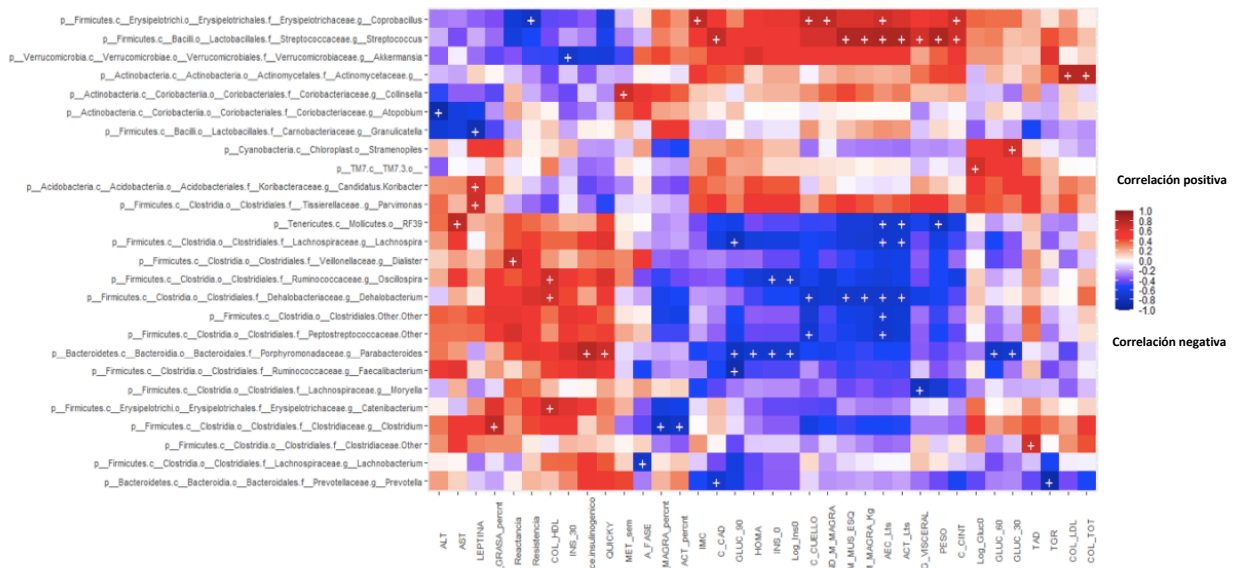


Figura 4. Correlación entre la microbiota intestinal y parámetros de composición corporal, control glucémico y parámetros bioquímicos después de 16 semanas de tratamiento en el grupo PICEV + Placebo.

DISCUSIÓN

En este ensayo clínico se valoró el efecto de un compuesto de probióticos en parámetros de composición corporal, control glucémico y otros datos bioquímicos en pacientes con obesidad grado II y III sometidos a un programa de intervención de cambios en el estilo de vida. La administración de probióticos junto a un plan de dieta y ejercicio en el tratamiento integral del paciente adulto con obesidad ha demostrado tener efectos benéficos en cuanto a disminución de masa grasa y peso corporal en algunos ensayos clínicos.^{41, 47-50} Sin embargo, estos evalúan diferentes cepas por tiempos de intervención y dosis variables de tratamiento por lo que algunos resultados resultan contradictorios.

El compuesto probiótico utilizado en este estudio está compuesto por 6 cepas diferentes, de las cuales predominan *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus plantarum*. Cuando se ha evaluado el efecto de la administración de probióticos a pacientes obesos y no obesos, los resultados han sido discordantes. De acuerdo con lo referido por Million en el 2012 en un meta-análisis en el que se valoró el efecto de diferentes especies de

lactobacilos en peso corporal, este autor observó efectos discordantes dependiendo de las especies de lactobacilos, destacando a *Lactobacillus acidophilus* con un perfil obesogenico en neonatos alimentados con formula materna. De manera contraria se observó un efecto “anti-obesogenico” con *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus gasseri*, estos principalmente asociados a disminución en masa grasa y peso corporal.⁵¹ En nuestros resultados observamos que ambos grupos (placebo y probióticos) presentaron mejorías significativas en todos los parámetros de composición corporal dado que ambos fueron sometidos a un programa de cambios en el estilo de vida, sin embargo no se presentaron diferencias entre los grupos de tratamiento, este resultado podría deberse a que ambos grupos presentan efecto del tratamiento estándar (PICEV) y a su vez un efecto neutralizador entre las cepas contenidas en este compuesto.

Con respecto a los parámetros relacionados con el metabolismo de la glucosa y resistencia a la insulina, nuestro estudio muestra que tras el consumo de este compuesto de probióticos por 16 semanas se produce una reducción discreta y significativa en los niveles de glucosa en ayuno y hemoglobina glucosilada en comparación con placebo. Así mismo, en el análisis intragrupo se observa que el grupo PICEV + probióticos obtuvo reducciones en los niveles de insulina en ayuno, e índice HOMA-IR, dichos cambios no se observan en el grupo PICEV + placebo. Los hallazgos podrían deberse a efecto de bacterias productoras de AGCC a nivel entérico, las cuales activan receptores acoplados a proteínas G que inducen la producción de GLP – 1 con efectos en marcadores de metabolismo de la glucosa y resistencia a la insulina. Cabe señalar que el grupo de tratamiento PICEV + probióticos mostró correlación positiva significativa con bacterias el género *Allobaculum*, las cuales han demostrado ser productoras de AGCC (acetato, propionato, butirato, ácido n-valerico isobutirato) en ratas alimentadas con un compuesto de polisacáridos o tratadas con beberina con efectos en parámetros de resistencia a la insulina.^{52,53} Sin embargo, es de notar que aunque se encontró que tales efectos son producto del tratamiento con el compuesto probiótico, la relevancia clínica de tales cambios resulta no ser biológicamente beneficiosa.

Existe evidencia relacionada con los del tratamiento con probióticos en los niveles de lípidos séricos.^{54, 55} Este compuesto de probióticos contiene en menor medida bacterias del género *Bifidobacterium* a las cuales se les ha adjudicado un efecto en el metabolismo de los ácidos grasos a nivel tisular.⁵⁶ En nuestros resultados se observan cambios en colesterol total y colesterol LDL con significancia estadística en el grupo PICEV + probióticos y que a su vez se correlaciona de manera negativa con la presencia de *Bifidobacterium*, este último sin alcanzar significancia estadística con los hallazgos en la microbiota intestinal de grupos de tratamiento. Se ha propuesto como mecanismo a través del cual la microbiota intestinal tiene efectos en el perfil lipídico al producir

hidrolasas que disminuyen su absorción o tras la incorporación del colesterol en sus membranas celulares. En el 2007 Donkor y colaboradores observaron que las bacterias de género *Bifidobacterium* y *L. acidophilus* logran disminuir las cifras de presión arterial. Un efecto similar en presión arterial sistólica lo observó Rabiei y colaboradores en 2015 al administrar un compuesto de probióticos con 2 cepas del género *bifidobacterium* y diferentes cepas de lactobacilos. Si bien en este estudio no se observaron diferencias significativas entre los grupos, el grupo de tratamiento con probióticos mostró cambios más pronunciados, es probable que no se observen diferencias significativas entre ambos grupos debido al tamaño de la muestra, sin embargo, podrían observarse diferencias una vez que el tamaño de la muestra aumente.

De manera sorprendente no se observaron diferencias en la abundancia microbiana de la microbiota en los sujetos con el tratamiento probiótico. Esto podría deberse a un efecto temporal y con una duración menor a las semanas del periodo de intervención. Se requiere más investigación al respecto con muestras a intervalos de tiempo más reducidos para valorar la presencia de dichas bacterias.

CONCLUSIONES

Este ensayo clínico valoró el efecto de un compuesto probiótico con posibles efectos sinérgicos en variables de composición corporal y diversos parámetros metabólicos. Con los resultados que obtuvimos podemos concluir que la administración de un compuesto de probióticos durante 16 semanas reduce de manera significativa los niveles de colesterol total en comparación con el grupo de tratamiento estándar, sin embargo, esta reducción presenta poca relevancia clínica, por lo que se deben realizar estudios complementarios que valoren la intensidad y la duración de su efecto y así aclarar el panorama que sugiere su uso como una alternativa de tratamiento con pocos efectos adversos.

Considero que dentro de los aspectos favorables de este estudio se encuentra su diseño ya que fue cegado y aleatorizado, además del análisis de los cambios en la MI. Entre las limitantes de este se encuentra el tamaño de la muestra y la dispersión de los datos, ya que no permitió realizar análisis más complejos. No obstante, se encuentran diferencias significativas entre los grupos, las cuales se encuentran en correlación con los reportados en la literatura médica.

BIBLIOGRAFÍA

1. WHO. WHO: Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire. *World Health Organ Geneva*. 2016;21(83):421-428. doi:10.1186/1750-9378-2-15.Voir
2. Secretaria de Salud. Declaratoria de Emergencia Epidemiologica EE-3-2016. 2016:6. http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/emergencias/descargas/pdf/EE_3.pdf. Accessed January 24, 2021.
3. Shamah-Levy T, Vielma-Orozco E, Heredia-Hernández O, Romero-Martínez M, Mojica-Cuevas J C-NL, Santaella-Castell JA R-DJ. *Encuesta Nacional de Salud y Nutricion 2018-19 Resultado Nacionales*. Cuernavaca, México; 2020. https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_informe_final.pdf.
4. Fontaine KR, Redden DT, Wang C, Westfall AO, Allison DB. Years of life lost due to obesity. *J Am Med Assoc*. 2003;289(2):187-193. doi:10.1001/jama.289.2.187
5. WHO | Obesity: preventing and managing the global epidemic. https://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/. Accessed April 26, 2021.
6. Gotteland M. El papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la obesidad y de la diabetes de tipo-2. *Chil J Endocrinol Diabetes*. 2013;6(4):155-162.
7. Neish AS. Microbes in Gastrointestinal Health and Disease. *Gastroenterology*. 2009;136(1):65-80. doi:10.1053/j.gastro.2008.10.080
8. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The Human Microbiome Project. *Nature*. 2007;449(7164):804-810. doi:10.1038/nature06244
9. Gill SR, Pop M, DeBoy RT, et al. Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome. *Science* (80-). 2006;312(5778):1355-1359. <http://www.sciencemag.org/cgi/content/abstract/312/5778/1355>.
10. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep*. 2006;7(7):688-693. doi:10.1038/sj.embor.7400731
11. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. *Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora*. <http://science.sciencemag.org/>. Accessed May 18, 2021.
12. Bäckhed F, Ding H, Wang T, et al. *The Gut Microbiota as an Environmental Factor That Regulates Fat Storage*.; 2004. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0407076101. Accessed May 18, 2021.
13. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe*. 2015;17(5):690-703. doi:10.1016/j.chom.2015.04.004

14. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(33):14691-14696. doi:10.1073/pnas.1005963107
15. Faith JJ, Guruge JL, Charbonneau M, et al. The Long-Term Stability of the Human Gut Microbiota. doi:10.1126/science.1237439
16. Gérard P. Gut microbiota and obesity. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(1):147-162. doi:10.1007/s00018-015-2061-5
17. Sonnenburg JL, Bäckhed F. Diet–microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*. 2016;535(7610):56-64. doi:10.1038/nature18846
18. Bjursell M, Admyre T, Göransson M, et al. Improved glucose control and reduced body fat mass in free fatty acid receptor 2-deficient mice fed a high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011;300:211-220. doi:10.1152/ajpendo.00229.2010.-Free
19. Kobylak N, Virchenko O, Falalyeyeva T. Pathophysiological role of host microbiota in the development of obesity. 2016. doi:10.1186/s12937-016-0166-9
20. Rajilić-Stojanović M. Function of the microbiota. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2013;27(1):5-16. doi:10.1016/j.bpg.2013.03.006
21. Tsai CC, Lin PP, Hsieh YM, Zhang ZY, Wu HC, Huang CC. Cholesterol-Lowering Potentials of Lactic Acid Bacteria Based on Bile-Salt Hydrolase Activity and Effect of Potent Strains on Cholesterol Metabolism In Vitro and In Vivo. *Sci World J*. 2014;2014. doi:10.1155/2014/690752
22. Gérard P, Lepercq P, Leclerc M, Gavini F, Raibaud P, Juste C. *Bacteroides* sp. strain D8, the first cholesterol-reducing bacterium isolated from human feces. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(18):5742-5749. doi:10.1128/AEM.02806-06
23. Pereira DIA, Gibson GR. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2002;37(4):259-281. doi:10.1080/10409230290771519
24. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500(7464):541-546. doi:10.1038/nature12506
25. Fu J, Bonder MJ, Crenin MC, et al. The gut microbiome contributes to a substantial proportion of the variation in blood lipids. *Circ Res*. 2015;117(9):817-824. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.306807
26. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013;500(7464):585-588. doi:10.1038/nature12480
27. Zhang X, Shen D, Fang Z, et al. Human Gut Microbiota Changes Reveal the Progression of Glucose Intolerance. *PLoS One*. 2013. doi:10.1371/journal.pone.0071108
28. Larsen N, Vogensen FK, Van Den Berg FWJ, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*. 2010;5(2). doi:10.1371/journal.pone.0009085
29. Wu X, Ma C, Han L, et al. Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II

- diabetes. *Curr Microbiol.* 2010;61(1):69-78. doi:10.1007/s00284-010-9582-9
30. Wu H, Tremaroli V, Schmidt C, et al. The Gut Microbiota in Prediabetes and Diabetes: A Population-Based Cross-Sectional Study. *Cell Metab.* 2020;32(3):379-390.e3. doi:10.1016/j.cmet.2020.06.011
 31. Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature.* 2012;490. doi:10.1038/nature11450
 32. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. 2013. doi:10.1038/nature12198
 33. Ding S, Chi MM, Scull BP, et al. High-fat diet: Bacteria interactions promote intestinal inflammation which precedes and correlates with obesity and insulin resistance in mouse. *PLoS One.* 2010;5(8):e12191. doi:10.1371/journal.pone.0012191
 34. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(31):11070-11075. doi:10.1073/pnas.0504978102
 35. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006;444(7122):1022-1023. doi:10.1038/4441022a
 36. Santacruz A, Collado MC, García-Valdés L, et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *Br J Nutr.* 2010;104(1):83-92. doi:10.1017/S0007114510000176
 37. Probiotics in food Health and nutritional properties and guidelines for evaluation FAO FOOD AND NUTRITION PAPER.
 38. Islam SU. Clinical Uses of Probiotics. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(5):e2658. doi:10.1097/MD.0000000000002658
 39. Kobylak N, Conte C, Cammarota G, et al. Probiotics in prevention and treatment of obesity: a critical view. 2016. doi:10.1186/s12986-016-0067-0
 40. Larsen N, Vogensen FK, Gøbel RJ, et al. Effect of *Lactobacillus salivarius* Ls-33 on fecal microbiota in obese adolescents. *Clin Nutr.* 2013;32(6):935-940. doi:10.1016/j.clnu.2013.02.007
 41. Barreto FM, Colado Simão AN, Morimoto HK, et al. Effect of *Lactobacillus salivarius* Ls-33 on fecal microbiota in obese adolescents. *Clin Nutr.* 2013;30(6):939-942. doi:10.1016/j.clnu.2013.12.006
 42. Kadooka Y, Sato M, Imaizumi K, et al. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64(10):636-643. doi:10.1038/ejcn.2010.19
 43. Sanchez M, Darimont C, Drapeau V, et al. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC1.3724 supplementation on weight loss and maintenance in obese men and women. *Br J Nutr.* 2013;(2014):1-13. doi:10.1017/S0007114513003875
 44. Gomes AC, de Sousa RGM, Botelho PB, Gomes TLN, Prada PO, Mota JF. The additional effects of a probiotic mix on abdominal adiposity and antioxidant Status: A double-blind, randomized trial.

- Obesity*. 2017. doi:10.1002/oby.21671
45. Cruchet S, Furnes R, Maruy A, et al. The Use of Probiotics in Pediatric Gastroenterology: A Review of the Literature and Recommendations by Latin-American Experts. *Pediatr Drugs*. 2015;17(3):199-216. doi:10.1007/s40272-015-0124-6
 46. Fedorak RN, Madsen KL. Probiotics and prebiotics in gastrointestinal disorders. *Curr Opin Gastroenterol*. 2004;20(2):146-155. doi:10.1097/00001574-200403000-00017
 47. Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, et al. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis*. 2003;36(6):775-780. doi:10.1086/368080
 48. Merriman B, Torrent I, Rothberg JM. Progress in Ion Torrent semiconductor chip based sequencing. *Electrophoresis*. 2012;33(23):3397-3417. doi:10.1002/elps.201200424.
 49. Sierra S, Lara-Villoslada F, Sempere L, et al. Intestinal and immunological effects of daily oral administration of *Lactobacillus salivarius* CECT5713 to healthy adults. *Anaerobe* 2010;16:195e200.
 50. Borriello SP, et al. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis*. 2003;36:775-80.
 51. Million M, Angelakis E, Paul M, Armougom F, Leibovici L, Raoult D. Comparative meta-analysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals. *Microb Pathog* 2012; 53(2):100-108.
 52. Zhang X, Zhao Y, Zhang M, Pang X, Xu J, et al. (2012) Structural Changes of Gut Microbiota during Berberine-Mediated Prevention of Obesity and Insulin Resistance in High-Fat Diet-Fed Rats. *PLoS ONE* 7(8): e42529. doi:10.1371/journal.pone.0042529
 53. Zhang X, Zhao Y, Xu J, Xue Z, Zhang M, Pang X, Zhang X, Zhao L. Modulation of gut microbiota by berberine and metformin during the treatment of high-fat diet-induced obesity in rats. *Sci Rep*. 2015 Sep 23;5:14405. doi: 10.1038/srep14405. PMID: 26396057; PMCID: PMC4585776
 54. Lye H-S, Kuan C-Y, Ewe J-A, Fung W-Y, Liong M-T. The improvement of hypertension by probiotics: effects on cholesterol, diabetes, renin, and phytoestrogens. *Int J Mol Sci* 2009;10(9):3755e75.
 55. Olefsky J, Reaven GM, Farquhar JW. Effects of weight reduction on obesity studies of lipid and carbohydrate metabolism in normal and hyperlipoproteinemic subjects. *J Clin Invest* 1974;53(1):64.
 56. H.S. Ejtahed, J. Mohtadi-Nia, A. Homayouni-Rad, M. Niafar, M. Asghari-Jafarabadi, V. Mofid, A. Akbarian-Moghari. Effect of probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* on lipid profile in individuals with type 2 diabetes mellitus, *Journal of Dairy Science*, Volume 94, Issue 7, 2011, Pages 3288-3294, ISSN 0022-0302, <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4128>.
 57. Donkor O, Henriksson A, Vasiljevic T, Shah N. [alpha]-Galactosidase and proteolytic activities of selected probiotic and dairy cultures in fermented soymilk. *Food Chem* 2007;104:10-20.

ANEXOS

1. Cuestionario IPAQ

CUESTIONARIO INTERNACIONAL DE ACTIVIDAD FÍSICA (Octubre de 2002)

VERSIÓN LARGA FORMATO AUTO ADMINISTRADO - ÚLTIMOS 7 DÍAS

PARA USO CON JÓVENES Y ADULTOS DE MEDIANA EDAD (15-69 años)

Los Cuestionarios Internacionales de Actividad Física (IPAQ, por sus siglas en inglés) contienen un grupo de 4 cuestionarios. La versión larga (5 objetivos de actividad evaluados independientemente) y una versión corta (4 preguntas generales) están disponibles para usar por los métodos por teléfono o auto administrada. El propósito de los cuestionarios es proveer instrumentos comunes que pueden ser usados para obtener datos internacionalmente comparables relacionados con actividad física relacionada con salud.

Antecedentes del IPAQ

El desarrollo de una medida internacional para actividad física comenzó en Ginebra en 1998 y fue seguida de un extensivo exámenes de confiabilidad y validez hecho en 12 países (14 sitios) en el año 2000. Los resultados finales sugieren que estas medidas tienen aceptables propiedades de medición para usarse en diferentes lugares y en diferentes idiomas, y que son apropiadas para estudios nacionales poblacionales de prevalencia de participación en actividad física.

Uso del IPAQ

Se recomienda el uso de los instrumentos IPAQ con propósitos de monitoreo e investigación. Se recomienda que no se hagan cambios en el orden o redacción de las preguntas ya que esto afectará las propiedades sicométricas de los instrumentos.

Traducción del Inglés y Adaptación Cultural

Traducción del Inglés es sugerida para facilitar el uso mundial del IPAQ. Información acerca de la disponibilidad del IPAQ en diferentes idiomas puede ser obtenida en la página de internet www.ipaq.ki.se. Si se realiza una nueva traducción recomendamos encarecidamente usar los métodos de traducción nuevamente al Inglés disponibles en la página web de IPAQ. En lo posible por favor considere poner a disposición de otros su versión traducida en la página web de IPAQ. Otros detalles acerca de traducciones y adaptación cultural pueden ser obtenidos en la página web.

Otros Desarrollos de IPAQ

Colaboración Internacional relacionada con IPAQ es continua y un ***Estudio Internacional de Prevalencia de Actividad Física*** se encuentra en progreso. Para mayor información consulte la página web de IPAQ.

Información Adicional

Información más detallada del proceso IPAQ y los métodos de investigación usados en el desarrollo de los instrumentos IPAQ se encuentra disponible en la página www.ipaq.ki.se y en Booth, M.L. (2000). *Assessment of Physical Activity: An International Perspective*. Research

CUESTIONARIO INTERNACIONAL DE ACTIVIDAD FÍSICA

Estamos interesados en saber acerca de la clase de actividad física que la gente hace como parte de su vida diaria. Las preguntas se referirán acerca del tiempo que usted utilizó siendo físicamente activo(a) en los **últimos 7 días**. Por favor responda cada pregunta aún si usted no se considera una persona activa. Por favor piense en aquellas actividades que usted hace como parte del trabajo, en el jardín y en la casa, para ir de un sitio a otro, y en su tiempo libre de descanso, ejercicio o deporte.

Piense acerca de todas aquellas actividades **vigorosas** y **moderadas** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Actividades **vigorosas** son las que requieren un esfuerzo físico fuerte y le hacen respirar mucho más fuerte que lo normal. Actividades **moderadas** son aquellas que requieren un esfuerzo físico moderado y le hace respirar algo más fuerte que lo normal.

PARTE 1: ACTIVIDAD FÍSICA RELACIONADA CON EL TRABAJO

La primera sección es relacionada con su trabajo. Esto incluye trabajos con salario, agrícola, trabajo voluntario, clases, y cualquier otra clase de trabajo no pago que usted hizo fuera de su casa. No incluya trabajo no pago que usted hizo en su casa, tal como limpiar la casa, trabajo en el jardín, mantenimiento general, y el cuidado de su familia. Estas actividades serán preguntadas en la parte 3.

1. ¿Tiene usted actualmente un trabajo o hace algún trabajo no pago fuera de su casa?

Sí

No →

Pase a la PARTE 2: TRANSPORTE

Las siguientes preguntas se refieren a todas las actividades físicas que usted hizo en los **últimos 7 días** como parte de su trabajo pago o no pago. Esto no incluye ir y venir del trabajo.

2. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días realizó usted actividades físicas **vigorosas** como levantar objetos pesados, excavar, construcción pesada, o subir escaleras **como parte de su trabajo**? Piense solamente en esas actividades que usted hizo por lo menos 10 minutos continuos.

_____ días por semana

Ninguna actividad física vigorosa relacionada con el trabajo
Pase a la pregunta 4



No sabe/No está seguro(a)

3. ¿Cuánto tiempo en total usualmente le toma realizar actividades físicas **vigorosas** en uno de esos días que las realiza como parte de su trabajo?
- _____ horas por día
_____ minutos por día
- No sabe/No está seguro(a)
4. Nuevamente, piense solamente en esas actividades que usted hizo por lo menos 10 minutos continuos. Durante **los últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo Usted actividades físicas **moderadas** como cargar cosas ligeras **como parte de su trabajo**? Por favor no incluya caminar.
- _____ días por semana
- No actividad física moderada relacionada con el trabajo →
Pase a la pregunta 6
5. ¿Cuánto tiempo en total usualmente le toma realizar actividades físicas **moderadas** en uno de esos días que las realiza como parte de su trabajo?
- _____ horas por día
_____ minutos por día
- No sabe/No está seguro(a)
6. Durante **los últimos 7 días**, ¿Cuántos días **caminó** usted por lo menos 10 minutos continuos **como parte de su trabajo**? Por favor no incluya ninguna caminata que usted hizo para desplazarse de o a su trabajo.
- _____ días por semana
- Ninguna caminata relacionada con trabajo →
Pase a la PARTE 2: TRANSPORTE
7. ¿Cuánto tiempo en total pasó generalmente **caminado** en uno de esos días como parte de su trabajo?
- _____ horas por día
_____ minutos por día
- No sabe/No está seguro(a)

PARTE 2: ACTIVIDAD FÍSICA RELACIONADA CON TRANSPORTE

Estas preguntas se refieren a la forma como usted se desplazó de un lugar a otro, incluyendo lugares como el trabajo, las tiendas, el cine, entre otros.

8. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días **viajó usted en un vehículo de motor** como un tren, bus, automóvil, o tranvía?

_____ **días por semana**

No viajó en vehículo de motor



Pase a la pregunta 10

9. Usualmente, ¿Cuánto tiempo gastó usted en uno de esos días **viajando** en un tren, bus, automóvil, tranvía u otra clase de vehículo de motor?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

Ahora piense únicamente acerca de **montar en bicicleta** o **caminatas** que usted hizo para desplazarse a o del trabajo, haciendo mandados, o para ir de un lugar a otro.

10. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días **montó usted en bicicleta** por al menos 10 minutos continuos para **ir de un lugar a otro**?

_____ **días por semana**

No montó en bicicleta de un sitio a otro



Pase a la pregunta 12

11. Usualmente, ¿Cuánto tiempo gastó usted en uno de esos días **montando en bicicleta** de un lugar a otro?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

12. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días caminó usted por al menos 10 minutos continuos para ir **de un sitio a otro**?

_____ **días por semana**

No caminatas de un sitio a otro



Pase a la PARTE 3: TRABAJO DE LA CASA, MANTENIMIENTO DE LA CASA, Y CUIDADO DE LA FAMILIA

13. Usualmente, ¿Cuánto tiempo gastó usted en uno de esos días **caminando** de un sitio a otro?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

PARTE 3: TRABAJO DE LA CASA, MANTENIMIENTO DE LA CASA, Y CUIDADO DE LA FAMILIA

Esta sección se refiere a algunas actividades físicas que usted hizo en los **últimos 7 días** en y alrededor de su casa tal como como arreglo de la casa, jardinería, trabajo en el césped, trabajo general de mantenimiento, y el cuidado de su familia.

14. Piense únicamente acerca de esas actividades físicas que hizo por lo menos 10 minutos continuos. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo usted actividades físicas **vigorosas** tal como levantar objetos pesados, cortar madera, palear nieve, o excavar **en el jardín o patio**?

_____ **días por semana**

- Ninguna actividad física vigorosa en el jardín o patio →
Pase a la pregunta 16

15. Usualmente, ¿Cuánto tiempo dedica usted en uno de esos días haciendo actividades físicas **vigorosas** en el jardín o patio?

_____ **horas por día**
_____ **minutos por día**

- No sabe/No está seguro(a)

16. Nuevamente, piense únicamente acerca de esas actividades físicas que hizo por lo menos 10 minutos continuos. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo usted actividades físicas **moderadas** tal como cargar objetos livianos, barrer, lavar ventanas, y rastrillar **en el jardín o patio**?

_____ **días por semana**

- Ninguna actividad física moderada en el jardín o patio →
Pase a la pregunta 18

17. Usualmente, ¿Cuánto tiempo dedica usted en uno de esos días haciendo actividades físicas **moderadas** en el jardín o patio?

_____ **horas por día**
_____ **minutos por día**

- No sabe/No está seguro(a)

18. Una vez más, piense únicamente acerca de esas actividades físicas que hizo por lo menos 10 minutos continuos. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo usted actividades físicas **moderadas** tal como cargar objetos livianos, lavar ventanas, estregar pisos y barrer **dentro de su casa**?

_____ **días por semana**

Ninguna actividad física moderada dentro de la casa →

***Pase a la PARTE 4:
ACTIVIDADES FÍSICAS DE
RECREACIÓN, DEPORTE Y
TIEMPO LIBRE***

19. Usualmente, ¿Cuánto tiempo dedica usted en uno de esos días haciendo actividades físicas **moderadas** dentro de su casa?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

PARTE 4: ACTIVIDADES FÍSICAS DE RECREACIÓN, DEPORTE Y TIEMPO LIBRE

Esta sección se refiere a todas aquellas actividades físicas que usted hizo en los **últimos 7 días** únicamente por recreación, deporte, ejercicio o placer. Por favor no incluya ninguna de las actividades que ya haya mencionado.

20. Sin contar cualquier caminata que ya haya usted mencionado, durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días **caminó** usted por lo menos 10 minutos continuos **en su tiempo libre**?

_____ **días por semana**

Ninguna caminata en tiempo libre



Pase a la pregunta 22

21. Usualmente, ¿Cuánto tiempo gastó usted en uno de esos días **caminando** en su tiempo libre?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

22. Piense únicamente acerca de esas actividades físicas que hizo por lo menos 10 minutos continuos. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo usted actividades físicas **vigorosas** tal como aeróbicos, correr, pedalear rápido en bicicleta, o nadar rápido en su **tiempo libre**?

_____ **días por semana**

Ninguna actividad física vigorosa en tiempo libre



Pase a la pregunta 24

23. Usualmente, ¿Cuánto tiempo dedica usted en uno de esos días haciendo actividades físicas **vigorosas** en su tiempo libre?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

24. Nuevamente, piense únicamente acerca de esas actividades físicas que hizo por lo menos 10 minutos continuos. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo usted actividades físicas **moderadas** tal como pedalear en bicicleta a paso regular, nadar a paso regular, jugar dobles de tenis, **en su tiempo libre**?

_____ **días por semana**

Ninguna actividad física moderada en tiempo libre



Pase a la PARTE 5: TIEMPO DEDICADO A ESTAR SENTADO(A)

25. Usualmente, ¿Cuánto tiempo dedica usted en uno de esos días haciendo actividades físicas **moderadas** en su tiempo libre?

_____ **horas por día**

_____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

PARTE 5: TIEMPO DEDICADO A ESTAR SENTADO(A)

Las últimas preguntas se refieren al tiempo que usted permanezca sentado(a) en el trabajo, la casa, estudiando, y en su tiempo libre. Esto incluye tiempo sentado(a) en un escritorio, visitando amigos(as), leyendo o permanecer sentado(a) o acostado(a) mirando televisión. No incluya el tiempo que permanezca sentado(a) en un vehículo de motor que ya haya mencionado anteriormente.

26. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuánto tiempo permaneció **sentado(a)** en un **día en la semana**?

_____ **horas por día**
_____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

27. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuánto tiempo permaneció **sentado(a)** en un **día del fin de semana**?

_____ **horas por día**
_____ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

Este es el final del cuestionario, gracias por su participación.

2. Folleto explicativo para la toma y almacenamiento de la muestra de heces

1. Para la recolección de la muestra se le otorgara el siguiente material:



2. La muestra se recolectará una noche previa a su cita o en la mañana antes de su cita.

3. Previo a la recolección, usted deberá etiquetar el frasco recolector con su nombre completo y ECU.



4. Antes de la recolección de la muestra, deberá vaciar el contenido de la vejiga:



5. Posteriormente, colocará un envoltorio plastificado entre el borde del inodoro y su tapa.



6. Procederá a defecar con el objetivo que las heces permanezcan sobre el envoltorio plastificado colocado previamente.



7. Posteriormente tomara el abatelenguas (a modo de cuchara) para tomar una porción del tamaño de una nuez y lo colocara en el frasco recolector.



8. Colocara la muestra recolectada en una bolsa aislante y la resguardara en el refrigerador o en su sitio fresco hasta ser entregado el día de la cita.

