

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNANDEZ DE ELCHE



Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas.

**Efectos del uso de probióticos en pacientes con obesidad mórbida intervenidos de gastrectomía vertical laparoscópica.**

**Carlos Javier Díaz Lara**

Director de la tesis

**Prof. D. Francisco Javier Lacueva Gómez**

Codirectora de la tesis

**Dra. Victoria Sánchez Hellín**

**2021**



La presente Tesis Doctoral, titulada “Efectos del uso de probióticos en pacientes con obesidad mórbida intervenidos de gastrectomía vertical laparoscópica”, se presenta bajo la modalidad de **tesis convencional con el/los siguiente/s indicios de calidad:**

- “Tolerance to Specific Foods After Laparoscopic Sleeve Gastrectomy”.
  - 1. ——— Diaz-Lara C, Curtis C, Romero M, Palazón-Bru A, Diez-Tabernilla M, Oller I, et al. Tolerance to Specific Foods After Laparoscopic Sleeve Gastrectomy. *Obesity Surgery*. 1 de octubre de 2020;30(10):3891-7.

UNIVERSITAS Miguel Hernández



El Prof. *“Francisco Javier Lacueva Gómez”*, director/a, y la Dra. Dña. *“Victoria Sánchez Hellín”*, codirectora de la tesis doctoral titulada **“Efecto del uso de probióticos en pacientes con obesidad mórbida intervenidos de gastrectomía vertical laparoscópica”**

**INFORMA/N:**

El D. *Carlos Javier Díaz Lara* ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado **“Efecto del uso de probióticos en pacientes con obesidad mórbida intervenidos de gastrectomía vertical laparoscópica”** conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo con el Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmamos para los efectos oportunos, en Elche a 9 de diciembre. de 2021.

Director de la tesis

Prof. Francisco Javier Lacueva Gómez

Codirectora de la tesis

Dra. Dña. *Victoria Sánchez Hellín.*

*A la persona que siempre confió en mí y me dio alas para volar  
Gracias Papa*

Y

*a mi Madre por aguantar mi mal humor y saber sosegar me y mis  
hermanas Ana Marta y Mari Carmen por apoyarme siempre en mi  
camino.*



## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer la ayuda de todos aquellos que han hecho posible la realización de este trabajo, especialmente:

Al Prof. Francisco Javier Lacueva, director de esta tesis doctoral, por su gran paciencia y por compartir sus conocimientos y su experiencia sin los cuales, no hubiera sido posible su finalización. Gracias por tu comprensión y por acompañarme en todo momento. Gracias por tantas horas de dedicación

A mi directora la Dra. Victoria Sánchez Hellín por transmitirme tanta positividad, enseñarme tanto sobre microbiología y nunca desfallecer a pesar de los tropiezos. Siempre confió en mí y me mostró los caminos a seguir. Nunca era mal momento para ella incluso cuando estaba enferma. Siempre veía luz donde yo daba palos de ciego.

Al Prof. Antonio Arroyo, por darme la oportunidad de formar parte de un Servicio de Cirugía en el que progresé como Cirujano y aprendí que los jefes pueden ser un compañero, un jefe e incluso un amigo.

A la Dra. Mónica Parra Grande, porque en medio de su tesis tuvo tiempo para ayudarme en el arduo trabajo del análisis de la microbiota.

A Fran Muñoz, mi compañero inseparable por soportarme incondicionalmente, apoyarme y animarme a conseguir todos mis retos y proyectos en nuestra aventura juntos.

## ÍNDICE

<b>I.INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
1. EVOLUCION DE LA OBESIDAD Y ESTADO ACTUAL.....	13
2. DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE LA OBESIDAD.....	15
2.1. CONCEPTO.....	15
2.2. CLASIFICACIÓN.....	16
3. ETIOPATOGENIA.....	19
3.1. FACTORES SOCIOECONÓMICOS Y ESTILO DE VIDA.....	19
3.2. FACTORES PSICOLÓGICOS.....	20
3.3. FACTORES NEUROENDOCRINOS.....	20
3.4. FACTORES GENÉTICOS.....	21
4. EPIDEMIOLOGIA.....	22
4.1. EPIDEMIOLOGIA DE LA OBESIDAD EN EL MUNDO.....	23
4.2. EPIDEMIOLOGIA DE LA OBESIDAD EN ESPAÑA.....	27
5. MORBILIDAD ASOCIADA A LA OBESIDAD.....	29
5.1. ALTERACIONES METABÓLICAS.....	29
5.2. ALTERACIONES CARDIOVASCULARES.....	30
5.3. ALTERACIONES RESPIRATORIAS.....	31
5.4. ENFERMEDADES DIGESTIVAS.....	32
5.5. INFERTILIDAD Y SOBREPESO.....	32
5.6. ALTERACIONES OSTEOARTICULARES.....	33
5.7. ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS.....	33
5.8. ALTERACIONES DE LA SALUD MENTAL.....	33
5.9. SÍNDROME METABÓLICO.....	33
6. TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD.....	35
6.1. TRATAMIENTO DIETÉTICO.....	36
6.2. EJERCICIO FÍSICO.....	38
6.3. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO.....	39
6.4. TERAPIA COGNITIVO-CONDUCTUAL.....	40
6.5. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO.....	41
6.5.1. Evolución histórica en el tratamiento quirúrgico.....	41
6.5.2. Técnicas restrictivas.....	45
6.5.2.1. Banda gástrica ajustable.....	45
6.5.2.2. Gastrectomía tubular o manga gástrica.....	46

6.5.3. Técnicas restrictivas-malabsortivas.....	47
6.5.3.1. Derivación biliopancreática (DBP) y cruce duodenal (CD).....	47
6.5.3.2. By-pass gástrico.....	48
6.5.3.3. Bypass duodenoileal en una anastomosis con gastrectomía vertical: SADIS-S.....	49
6.5.4. Cirugías emergentes mínimamente invasivas..	51
7. TOLERANCIA ALIMENTARIA TRAS CIRUGÍA BARIÁTRICA.....	52
8. MICROBIOTA INTESTINAL: CONCEPTOS Y CONOCIMIENTOS ACTUALES.....	52
8.1. INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES EN LA MICROBIOTA INTESTINAL.....	54
8.2. DESARROLLO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL.....	56
8.3. CARACTERÍSTICAS Y COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL.....	58
8.4. FUNCIONES DE LA MICROBIOTA INTESTINAL.....	60
8.4.1 Función metabólica de la microbiota.....	61
8.4.2 Protección contra los microorganismos externos.....	62
8.4.3 Maduración y funciones de sistema inmune de la mucosa.....	62
8.5. IMPLICACIONES DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN LA SALUD.....	65
8.5.1. Infecciones gastrointestinales.....	65
8.5.2. Enfermedades de base inmunológica.....	65
8.5.3. Cáncer de colon.....	67
8.5.4. Enfermedades metabólicas.....	67
8.5.4.1 Microbiota y obesidad.....	68
8.5.4.2 Microbiota y diabetes mellitus II.....	70
8.5.4.3 Microbiota y enfermedad hepática...73	
8.6. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL.....	74
8.6.1. Métodos tradicionales directos.....	75
8.6.2. Métodos tradicionales indirectos.....	75
8.6.3. Métodos moleculares.....	75
8.6.3.1. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	75
8.6.3.2. Metagenómica.....	77
8.6.4. Estudio de la diversidad de especies	





4.7.1. Análisis de la diversidad alfa en muestras basales...	115
4.7.2. Análisis taxonómico de la composición microbiana en muestras basales.....	116
4.8. COMPOSICIÓN MICROBIANA EN MUESTRA BASAL .....	118
4.8.1. Abundancia relativa a nivel de filo en muestra basal .....	118
4.8.2. Abundancia relativa a nivel de género en muestra basal.....	119
4.9. CARACTERIZACION DE LA COMPOSICIÓN MICROBIANA DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO Y ASOCIACION CON RESULTADOS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS.....	120
4.9.1. Análisis de la diversidad alfa y la pérdida de exceso de peso .....	120
4.9.2. Análisis taxonómico y la pérdida del exceso de peso .....	127
4.9.3. Análisis alfa diversidad en función de comorbilidades clínicas.....	134
4.9.4. Análisis multivariante de diversidad beta en la muestra basal.....	135
4.10. TOLERANCIA ALIMENTARIA TRAS GVL.....	139
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>144</b>
5.1. CAMBIOS PONDERALES Y NUTRICIONALES TRAS LA CIRUGIA EN FUNCIÓN DE LA TOMA DE PROBIÓTICOS.....	146
5.1.1. EFECTO DE TOMA DE PROBIÓTICOS SOBRE VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS Y CLÍNICAS.....	146
5.1.2. EFECTO DE LA TOMA DE PROBIÓTICOS SOBRE DETERMINADAS VARIABLES ANALÍTICAS.....	148
5.1.3. EFECTO DE TOMA DE PROBIÓTICOS SOBRE PARÁMETROS NUTRICIONALES.....	149
5.1.4. ANALISIS GLOBAL DE LA MICROBIOTA INTESTINAL BASAL.....	149
5.1.5. CAMBIOS PONDERALES EN FUNCIÓN DE LA MICROBIOTA BASAL Y RELACIÓN CON LAS VARIABLES CLÍNICAS.....	152
5.2. TOLERANCIA A DISTINTOS GRUPOS DE ALIMENTOS A LO LARGO DEL PRIMER AÑO DEL POSTOPERATORIO.....	156
5.3. APORTACIONES A LA PRÁCTICA CLÍNICA.....	158
5.4. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	159

<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>162</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>166</b>
<b>VIII. ANEXO.....</b>	<b>195</b>





# ***I.Introducción***



## INTRODUCCIÓN

### 1. Evolución de la obesidad y estado actual

La revolución neolítica de hace unos 12000 años, se consideró el antecedente de los cambios sociales modernos que favorecerían la obesidad, al cambiar del hombre cazador-recolector al hombre productor de alimentos y criador de animales para la alimentación (1).

En la era de los egipcios, la obesidad prevalecía en clases sociales altas, siendo demostrada la presencia de arterioesclerosis generalizada en cadáveres como Amenhotep III, Ramsés III y Menerptah (2).

Galeno en época romana definió la polisarquia, reconocida hoy en día como obesidad mórbida, y pudo clasificar la obesidad en moderada o grave.

En China se describieron los beneficios del uso de dietas específicas asociadas a estilo de vida saludables como el yoga (5).

En la Edad Media, se consideró una bendición, debido a la escases de alimentos.

En la segunda mitad del siglo XVIII Joannes Baptista Morgagni publica en 1765 la obra: *De Sedibus et Causis Morborum per Anatomen Indagata*. En ella describe la teoría anatomopatológica de la obesidad al observar las vísceras y buscar una relación con la clínica de las enfermedades (3). En el *De Sedibus* describe la obesidad visceral con comorbilidades asociadas, que son consideradas como el antecedente histórico de la obesidad androide o central (4).

En la Edad Contemporánea, los conocimientos dedicados a la polisarcia quedan resumidos en el *Textbook of Medicine* de Hufteland (1842). Se describen los elementos culpabilizadores para el obeso y otros consejos mas razonables. Pero aparecen las primeras recomendaciones absurdas que aún hoy en día encontramos en los “remedios milagrosos” de la actualidad.

El estadístico belga, Adolphe Quételet (1796-1874) definió por primera vez lo que hoy en día se conoce como Índice de Masa Corporal (IMC), parámetro que mide la gravedad de la obesidad en estudios epidemiológicos y clínicos en la actualidad.

Uno de los libros referentes publicados en el siglo XIX es “Corpulence, or excess of fat in the human body”. En el área de la antropometría discute el concepto de “normalidad” y de “sobrepeso” y aparece el concepto del desequilibrio calórico con los experimentos de calorimetría de Lavoisier y la primera ley de la Termodinámica de Helmholtz (5).

El creador de la endocrinología en España fue Gregorio Marañón (1887-1960). En su monografía “Gordos y flacos” describió y trató el tema de la obesidad(6). En su obra, repasa los conocimientos etiopatogénicos de la obesidad de la época.

En Francia, el endocrinólogo Jean Vague, describió lo que más tarde sería conocido como Síndrome X, asociando la distribución topográfica androide o central de la grasa (7).

Al final de la segunda guerra mundial (1945) se iniciaron los primeros estudios experimentales sobre la obesidad y su tratamiento al igual que la profundización en los procesos etiopatogénicos. Se analizaron por primera vez los tratamientos basados en los cambios en los hábitos alimentarios y en el control de la ingesta.

Las primeras cirugías bariátricas tuvieron su origen en los resultados obtenidos tras resecciones de intestino delgado por otras causas, al observar que estos pacientes adelgazaban respecto a los pacientes que mantenían la longitud intestinal primitiva. La primera intervención bariátrica descrita en 1952 estaba basada en bypass yeyuno-ileal. Los consejos en cambios de hábitos alimentarios y el aumento del ejercicio físico seguían siendo las recomendaciones básicas para el tratamiento de la obesidad. Sin embargo, no existía el concepto de cirugía bariátrica como lo conocemos actualmente.

En el año 1994 la revista Nature publica el artículo *Positional Cloning of the mouse obese gene and its human homologue*, por el grupo liderado por J. Friedman de la Rockefeller University (8). Describen el gen **ob** en el ratón, la proteína que codifica la Leptina, y el gen homólogo en el ser humano. Gracias a este descubrimiento aumentó sustancialmente la investigación en biología molecular y en genética en relación con la obesidad.

En la Declaración de Milán (9) en 1999, los países pertenecientes a la Unión Europea asumieron la obesidad como un trastorno básico a partir del que se desarrollan comorbilidades de todo tipo (cardiovasculares, reumatológicas, digestivas, endocrinas, etc.). En 2002, la OMS, en su resolución WHA 55.23, desarrolló la

Estrategia Mundial sobre Régimen Alimentario, Actividad Física y Salud, que fue aprobada por los estados miembros en mayo de 2004, momento en el que se etiquetó a la obesidad como la “*epidemia del siglo XXI*”.

La prevalencia está en aumento en la población adulta, así como también lo hace en la población infanto-juvenil. Todo ello conlleva un incremento de las comorbilidades asociadas, especialmente la diabetes mellitus tipo 2, con el consiguiente aumento de los costes sanitarios y económicos. Por los citados motivos, la OMS ha considerado a la obesidad como una epidemia del siglo XXI.

## 2. Diagnóstico y clasificación de la obesidad

### 2.1 Concepto

La obesidad es una enfermedad crónica caracterizada por un aumento en la acumulación de grasa corporal, que va asociado a un aumento de peso (10).

El método más utilizado para definir la obesidad en la clínica es el método antropométrico, que viene definido por un IMC mayor de 30. Existen diferentes técnicas para la valoración de la grasa corporal (Tabla 1) que se agrupan en las técnicas de medición antropométricas y las que utilizan otros sistemas como el análisis de la composición corporal o las técnicas de imagen.

Técnicas para el estudio de la composición corporal
Antropometría (IMC, perímetros de cintura y cadera, pliegues cutáneos)
Impedancia bioeléctrica (BIA)
Densitometría de doble fotón dual (DEXA)
Tomografía Axial Computerizada (TAC)
Resonancia Nuclear Magnética (RNM)
Pletismografía por intercambio de aire (BOD-POD)
Ecografía (ultrasonidos)
Densitometría

Tabla 1 Técnicas de valoración de la composición corporal

Según el porcentaje grasa corporal definimos la obesidad en el hombre cuando se alcanzan valores mayores al 25% de grasa corporal y del 33% de la grasa corporal en las mujeres adultas (11).

Los expertos recomiendan la cálculos antropométricos (peso, pliegues cutáneos, perímetro de cintura) como el método más útil tanto en la práctica clínica como en investigación por su sencillez y fiabilidad, aunque su precisión en ocasiones es controvertida (12). El cálculo del IMC, se considera el método de referencia para el diagnóstico de la obesidad, aunque se deben hacer sus excepciones en los pacientes deportistas o musculosos y en los ancianos donde puede no ser del todo preciso (13).

## 2.2. Clasificación

Podemos clasificar la obesidad en función de diferentes criterios. Así tenemos:

- **Se según su origen, Clasificación etiológica:**

Tenemos por un lado la denominada obesidad esencial, que corresponde aproximadamente al 90% de los casos en España. Y es debida a una alteración en la regulación del ajuste del peso corporal. Y por otro lado, la otra gran causa sería la endocrina, por patologías como la hiperinsulinemia, la hipofunción suprarrenal, la obesidad ovárica o el hipotiroidismo.

- **Clasificación según IMC:**

El IMC continúa siendo el criterio más utilizado en la clínica habitual para determinar el grado de obesidad de los pacientes. La Tabla 2 muestra la clasificación ofrecida por la OMS (14). En España, la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) y la Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad (SECO) ofrecen una clasificación detallada delimitando los distintos grados de sobrepeso y obesidad (Tabla 3).



Grados de obesidad según OMS 2019 Valores límite del IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Categoría
< 18,5	Peso insuficiente
18,5 < 24	Peso normal
25,0 – 29,9	Sobrepeso
30,0 – 34,9	Obesidad grado I
35,0 – 39,9	Obesidad grado II
40,0 – 49,9	Obesidad grado III (mórbida)

Tabla 2 clasificación obesidad según IMC (OMS)

Los criterios de obesidad de la OMS son los más aceptados internacionalmente y presentan buenas correlaciones para las poblaciones europeas y norteamericanas. En nuestra área se utiliza más la clasificación de la SECO y la SEEDO.

Grados de obesidad según SEEDO/ SECO 2007	
Valores límite del IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Categoría
< 18,5	Peso insuficiente
18,5 < 24,9	Peso normal
25,0 - 26,9	Sobrepeso grado I
27,0 - 29,9	Sobrepeso grado II (preobesidad)
30,0 – 34,9	Obesidad de tipo I
35,0 – 39,9	Obesidad tipo II
40,0 – 49,9	Obesidad Tipo III (mórbida)
>50	Obesidad de tipo IV (extrema)

Tabla 3 clasificación de obesidad según IMC (SEEDO 2007)



- **Clasificación según la disposición de la grasa acumulada:**

La distribución de la grasa corporal está relacionada independientemente con la morbilidad y el riesgo cardiovascular. Se han descrito cuatro tipos de distribución de grasa corporal (15).

1. Homogénea o generalizada: la grasa se acumula de forma homogénea tanto en la cintura como en las caderas, sin predominio en ninguno de los dos lugares.

2. Androide o abdominal: la grasa se acumula en la región abdominal y existe un cociente cintura/cadera superior a 1 en el hombre y de 0,9 en la mujer. O cuando la circunferencia de la cintura es superior a 102 cm en el hombre y a 88 cm en la mujer. Asocia un mayor riesgo cardiovascular.

3. Visceral: el exceso de grasa se da alrededor de las vísceras abdominales, requiriendo para su diagnóstico técnicas de imagen. Es la que asocia mayor riesgo cardiovascular.

4. Ginecoide: La grasa se acumula en la cadera y existe un cociente cintura/cadera inferior a 1 en el hombre y a 0,9 en la mujer (14).

### **3. Etiopatogenia**

La obesidad se considera una enfermedad multifactorial, determinada por factores exógenos o ambientales y endógenos o de tipo genético. El excesivo aporte calórico de los alimentos de la dieta respecto a la disminución del gasto energético, no puede atribuirse como la única causa de esta enfermedad. Actualmente se sabe que un pequeño balance energético positivo inicial no puede producir grandes aumentos de peso corporal, dado que, tras un ligero aumento de las reservas energéticas, el correspondiente aumento de consumo energético hace retornar al organismo al equilibrio energético (16).

Por otro lado, el gasto energético integra cuatro conceptos fundamentales: el gasto energético identificado como la cantidad de energía necesaria para mantener las funciones orgánicas que mantienen las constantes vitales del individuo; el efecto térmico de los alimentos que se define como la cantidad de energía consumida en los procesos de aprovechamiento de los nutrientes ingeridos; la termogénesis inducida por el frío necesaria para el mantenimiento de la temperatura corporal, y el efecto térmico del ejercicio físico. Al igual que en el caso de la ingesta, cualquier desequilibrio en la regulación del gasto energético podría contribuir a facilitar la acumulación de grasa en el tejido adiposo (16).

Hoy en día se sabe que en la obesidad influyen distintas situaciones culturales, ambientales, demográficas, socioeconómicas, psicológicas y hasta genéticas. Por ejemplo, se ha descubierto que entre el 40-70% de la variación en los fenotipos obesos ya está mediada por factores genéticos (17).

#### **3.1. Factores socioeconómicos y estilo de vida**

Los cambios en el estilo de vida por la modernización, la llegada de las nuevas tecnologías y el ocio pasivo, han modificado los modelos dietéticos y de actividad física, lo que han propiciado un aumento de peso en la población en las últimas décadas (18).

La falta de ejercicio junto al sedentarismo moderno y el desarrollo de las nuevas tecnologías, en una sociedad en busca de la comodidad y del mínimo

esfuerzo (19) es uno de los factores más importantes en el crecimiento de la prevalencia de la obesidad.

La obesidad está más presente en las clases sociales más desfavorecidas y con niveles culturales más bajos, debido a que tienen menos posibilidades de consumir alimentos de buena calidad nutricional y baja densidad energética (frutas, verduras, hortalizas y cereales). La población con un mayor nivel socioeconómico tiene más flexibilidad para elegir su dieta y diferentes patrones de ejercicio (14). Por otro lado, la gran presión laboral actual, hace que dispongamos de menor tiempo libre y con ello aumenta la dificultad para la realización de ejercicio físico.

### **3.2. Factores psicológicos**

Se han descrito diversas alteraciones emocionales y psicológicas que pueden llevar asociados trastornos del comportamiento alimentario y preceder de esta manera a la ganancia de peso y a la aparición de la obesidad (20). Algunos estudios han tratado de establecer un perfil de personalidad en el individuo obeso; y se ha tratado de probar que los individuos obesos presentan más problemas psicológicos que la población general (21). Se ha descrito que son más inmaduros y celosos, que son más pasivos, dependientes y hostiles en sus relaciones interpersonales. Pero esta interpretación es controvertida pues hay que tener en cuenta la posibilidad de la bidireccionalidad de la relación entre los aspectos psicológicos y la obesidad.

### **3.3. Factores neuroendocrinos**

El sistema nervioso central regula el balance energético y el peso corporal mediante tres mecanismos: un primer mecanismo sería los efectos sobre el comportamiento, incluyendo la ingesta y la actividad física; un segundo efecto sería su interacción con el sistema nervioso autónomo, que regula el gasto energético y otros aspectos del metabolismo; y un tercer efecto sería sobre el sistema neuroendocrino, incluyendo la secreción de hormonas.

La implicación del hipotálamo en la regulación de la ingesta de alimentos y la homeostasis energética es de gran importancia. Daños en su estructura determina un tipo de obesidad debido a que en él se encuentran el centro de la saciedad que

controla la conducta alimentaria. El síndrome de Cushing, el síndrome de ovario poliquístico, el insulinoma, el hipogonadismo y el hipotiroidismo destacan como causas de obesidad de origen endocrinológica.

### 3.4. Factores genéticos

Han sido relacionados con la obesidad en humanos más de 250 genes (26). La contribución genética en el desarrollo de la obesidad se ha analizado en muchos trabajos sobre agregación familiar, estudiando los casos de gemelos y personas adoptadas, y en diversas poblaciones entre las cuales se espera que exista variabilidad genética (22).

Hoy en día, se considera que entre un 40-70% de la variación en el IMC se debe a estos factores genéticos (17). Se ha determinado que el riesgo de obesidad extrema es de 7-8 veces mayor en familias con algún pariente con dicho grado de obesidad (23). El ser humano están genéticamente programados para el almacenamiento de grasa según un patrón particular, si bien la interacción entre los factores ambientales y los genéticos modulan su expresión final (epigenética) (24).

Un descubrimiento importante ha sido la identificación de una raza de ratones en los que aparece un tipo de obesidad aislada en forma recesiva. El gen *ob* también se le conoce como gen *Lep* y se encuentra ubicado en el cromosoma 6 del ratón (25). En el ser humano, existe el equivalente del gen *ob* que ha podido identificarse mediante hibridación in situ en el cromosoma 7z3116. Sin embargo, los mecanismos reguladores del gen son complejos, y no se conocen en profundidad. Uno de los factores reguladores principal es el estado nutricional de manera que la expresión génica del gen aumenta con la ingesta y disminuye con el ayuno en una vía metabólica mediada por la insulina (26).

En los últimos años, los estudios genéticos han asociado el gen conocido como FTO al riesgo de padecer sobrepeso y obesidad (27). El mecanismo que determinaba esa asociación era desconocido, hasta que el grupo de investigadores de la Universidad de Chicago descubrió que los elementos asociados a la obesidad dentro del FTO interactúan con el gen IRX3 situado a mil unidades de distancia. Este grupo de investigadores observó en ratones que las mutaciones en los intrones del FTO que se

relacionan con a obesidad no afectan a su expresión, sino a la del nuevo gen lejano IRX3. Para verificar el papel del IRX3, los investigadores diseñaron ratones con el gen eliminado y comprobaron que dichos ratones eran significativamente más delgados que los normales. También comprobaron que la disminución en la ganancia de peso se producía a pesar de que los niveles de consumo de alimentos y de actividad física eran normales. Sin embargo, los ratones normales alimentados con una dieta alta en grasas duplicaron su peso (28). Tras estudiar esta relación en ratones, encontraron un patrón similar de interacciones en humanos al analizar los datos del proyecto ENCODE (29), que se confirmaron con experimentos en células humanas.

En el desarrollo de la obesidad existe una predisposición genética que incluye genes que interaccionan con el resto de los factores etiológicos (cambios nutricionales y del estilo de vida). Este aspecto multifactorial es lo que dificulta la identificación de los genes implicados en el desarrollo de la obesidad.

#### **4. Epidemiología**

De acuerdo con la OMS (30), desde 1980 la obesidad se ha duplicado en todo el mundo, llegando a más de 1 900 millones de adultos mayores de 18 años con sobrepeso en el año 2014, de los cuales, más de 600 millones alcanzan criterio de obesidad, lo que implica una prevalencia en adultos mayores de 18 años de 39% de sobrepeso y 13% de obesidad (31). En la población infantil, hay más de 41 millones de niños menores de 5 años con sobrepeso y obesidad a nivel mundial, lo que ha significado un incremento de cerca de 11 millones en los últimos 15 años.

La obesidad es un problema mundial que ya también ha alcanzado a niños y adolescentes, en los que la tasa de incremento de la prevalencia ha aumentado exponencialmente. La obesidad infantil afecta a ambos sexos y de forma especial a determinados grupos étnicos y de población, los cuales presentan un riesgo elevado de desarrollar enfermedades crónicas relacionadas con la obesidad (32).

#### 4.1 Epidemiología de la obesidad en el mundo

Según los últimos análisis, de la World Obesity, en el 2010 estimaron que aproximadamente un billón de adultos en el mundo tenía sobrepeso, y cerca de 475 millones tenían obesidad. En lo que respecta a la población europea, aproximadamente el 60% de los adultos, lo que supone alrededor de 260 millones de adultos con sobrepeso y obesidad (33).

La prevalencia de sobrepeso entre los diferentes países es muy variable, como se aprecia en la figura 1. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima una prevalencia de la obesidad con menos variabilidad intercontinental (Figura 2).

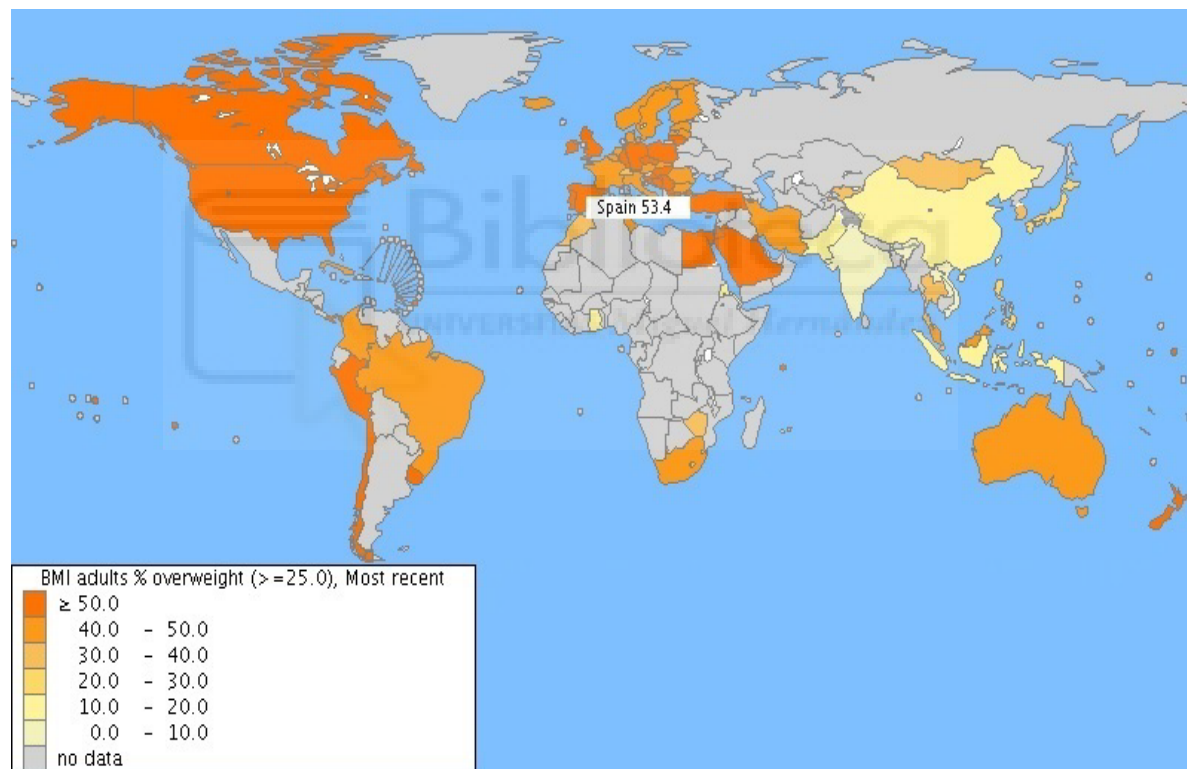


Figura 1. Prevalencia mundial del sobrepeso en edad adulta. Fuente. OMS. Base de datos mundial sobre el IMC. Disponible en <http://aps.who.int/bmi/index.jsp>

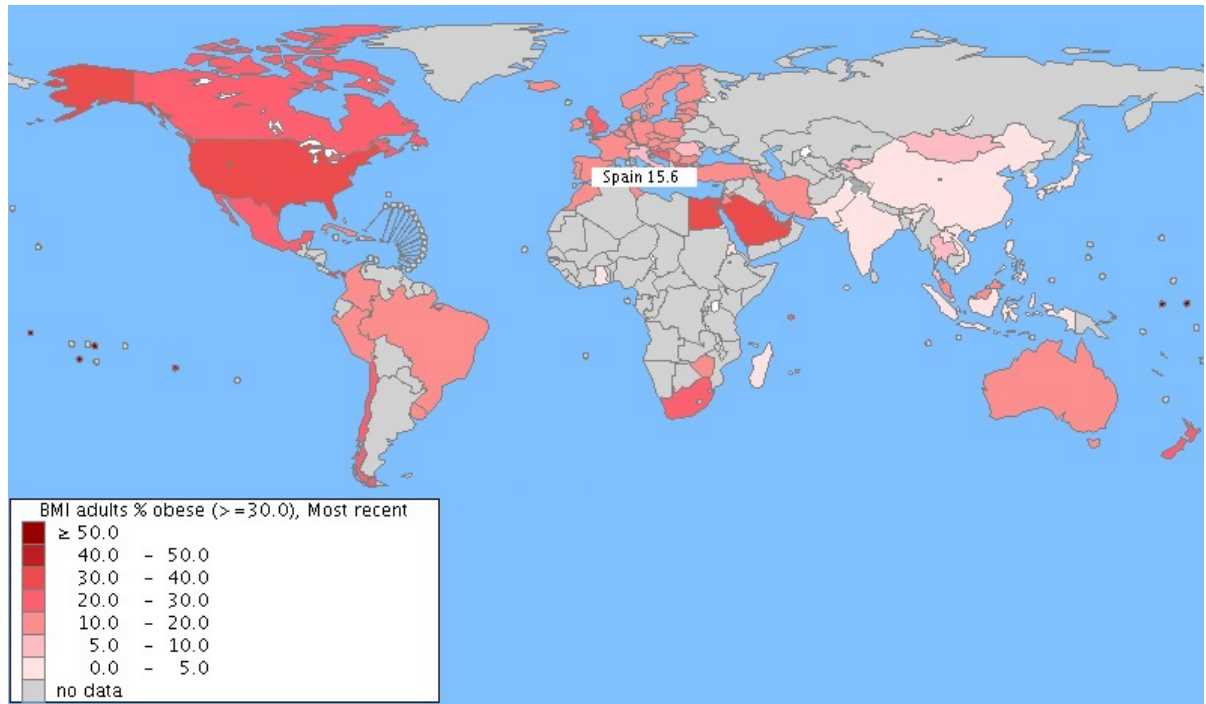


Figura 2. Prevalencia mundial de la obesidad en edad adulta. Fuente: OMS. Base de datos mundial sobre el IMC. Disponible en: <http://apps.who.int/bmi/index.jsp>

En la Figura 3 se muestra como Estados Unidos sigue siendo el país con mayor número de obesos en el mundo (34), seguido de cerca por España, donde la prevalencia de obesidad se ha duplicado en las dos últimas décadas, y sigue creciendo a un ritmo alarmante, especialmente en la población infantil.



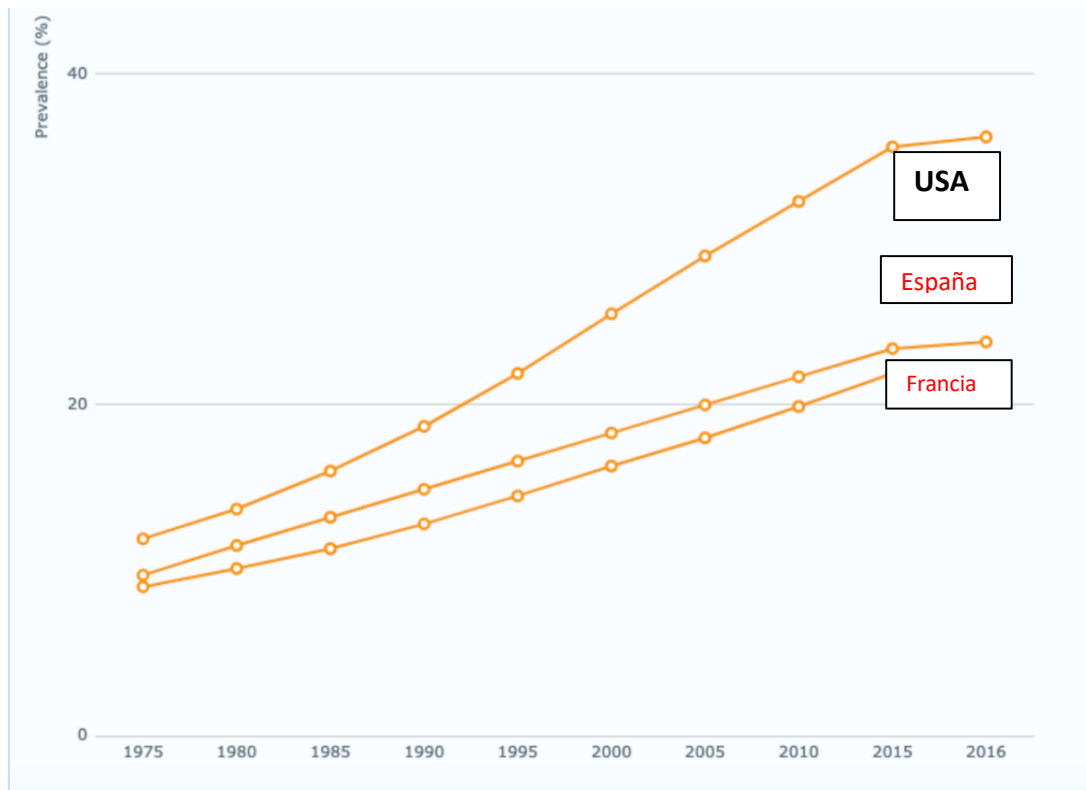


Figura 3. Prevalencia obesidad USA, España y Francia.



En la Figura 4 se muestra la prevalencia de la obesidad mundial según el sexo en los diferentes países comparados con los datos de la organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE). Se muestra la prevalencia de la obesidad en los diferentes países a través de las encuestas nacionales (columna izquierda) y según el sexo (columna derecha), en España se observa una prevalencia del 15,6% de obesidad en mujeres y 17,5% en hombres. La media de los países que forman la OCDE registra una tasa de prevalencia superior a la española siendo 18,7% en las mujeres y 17,9% en los hombres.

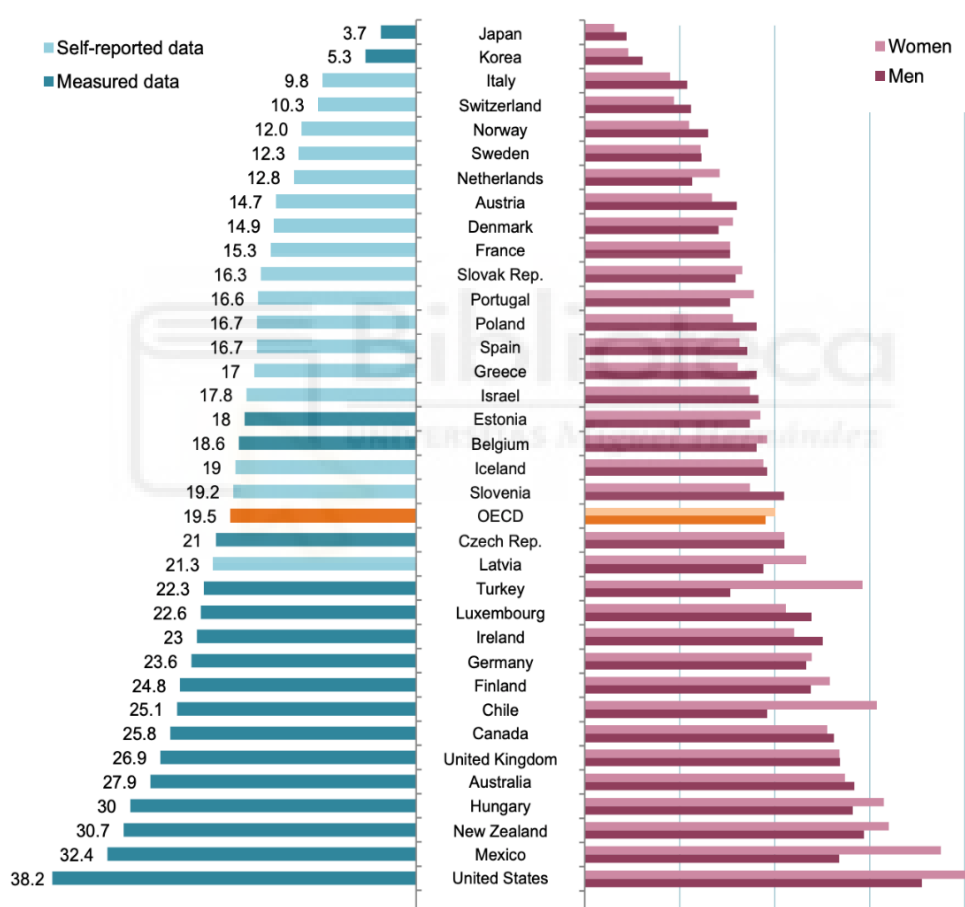


Figura 4. Prevalencia mundial de la obesidad. Fuente OECD Health Statistics 2017. Disponible en: [www.oecd.org/health/healthdata](http://www.oecd.org/health/healthdata).

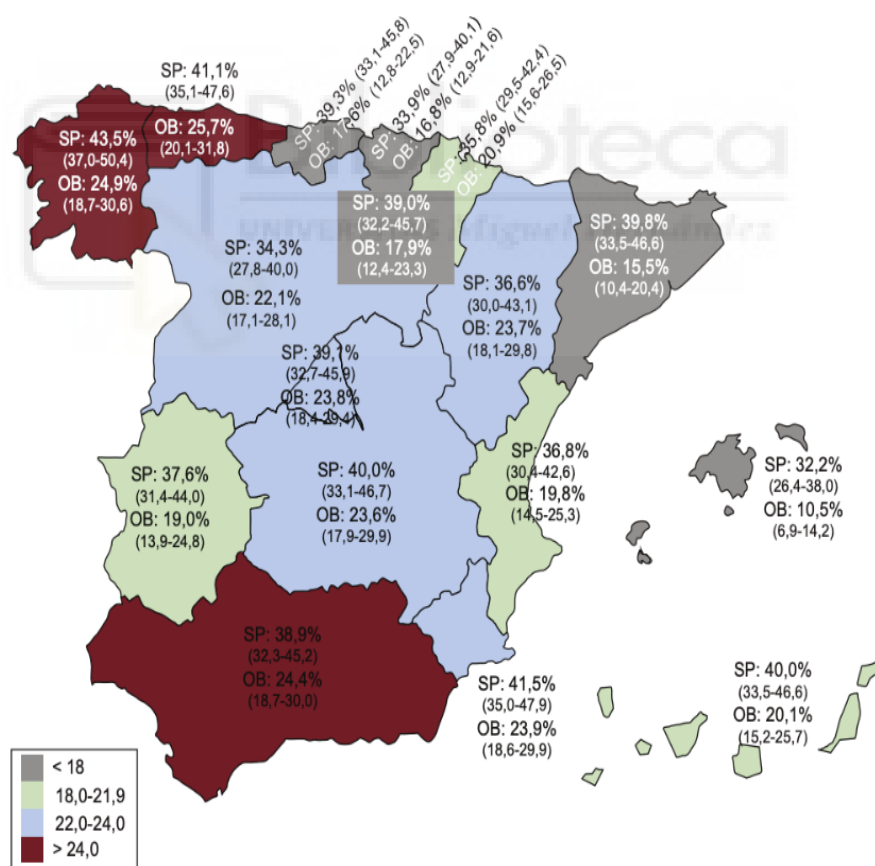
Los últimos datos reportados sobre obesidad en Estados Unidos aportan una prevalencia de mas de un 70% en población adulta y de un 85% en población infantil (35).

## 4.2 Epidemiología de la obesidad en España

Los resultados recogidos por la ENS en España del año 2016-2017, estiman una prevalencia de la obesidad del 17,4% en la población adulta. Pero hay que tener en cuenta que la obesidad y el sobrepeso juntos suman más de la mitad (54,5%) de los adultos con exceso de peso.

En los últimos años la prevalencia de la obesidad en adultos se ha multiplicado por 2,4, pasando del 7,4% en 1987 al 17,4% en 2017. La obesidad es más frecuente en hombres (18,2%) que en mujeres (16,7%). Los patrones de variación de prevalencia con la clase social la asocian a bajo nivel cultural y socioeconómico (36).

Figura 5. Mapa de la prevalencia de obesidad en población adulta (25-64 años) en España. Tasas ajustadas por edad. Entre paréntesis, intervalo de confianza del 95%. OB: obesidad; SP: sobrepeso



La mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad en España viene representada por la comunidad autónoma de Andalucía (37) (figura 5). Las mujeres con un nivel socioeducativo más bajo tienen una probabilidad 3,5 veces mayor de tener sobrepeso.

Mientras que las diferencias socioeducativas son menores entre los hombres como se observa en la Figura 6.

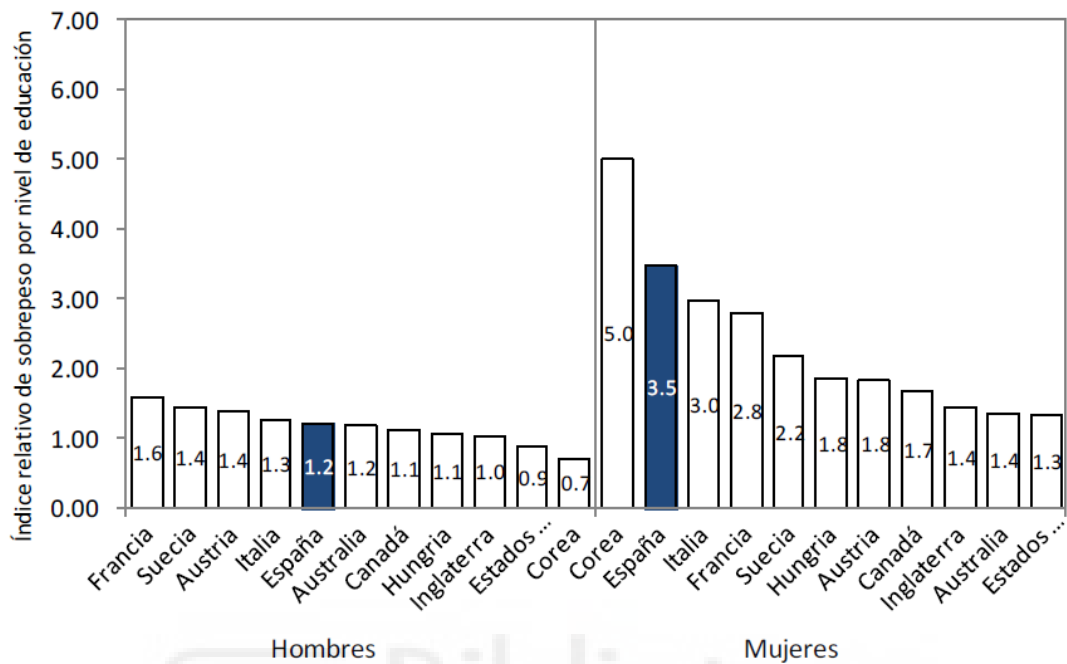


Figura 6 Índice relativo de sobrepeso por nivel de educación. Fuente: OECD Health Statistics 2014.

Según el nivel educativo existe un aumento de la obesidad en España en todos los niveles en las últimas décadas, Figura 7, encontrando un ascenso menor en las mujeres en comparación con los hombres en un periodo de 10 años.

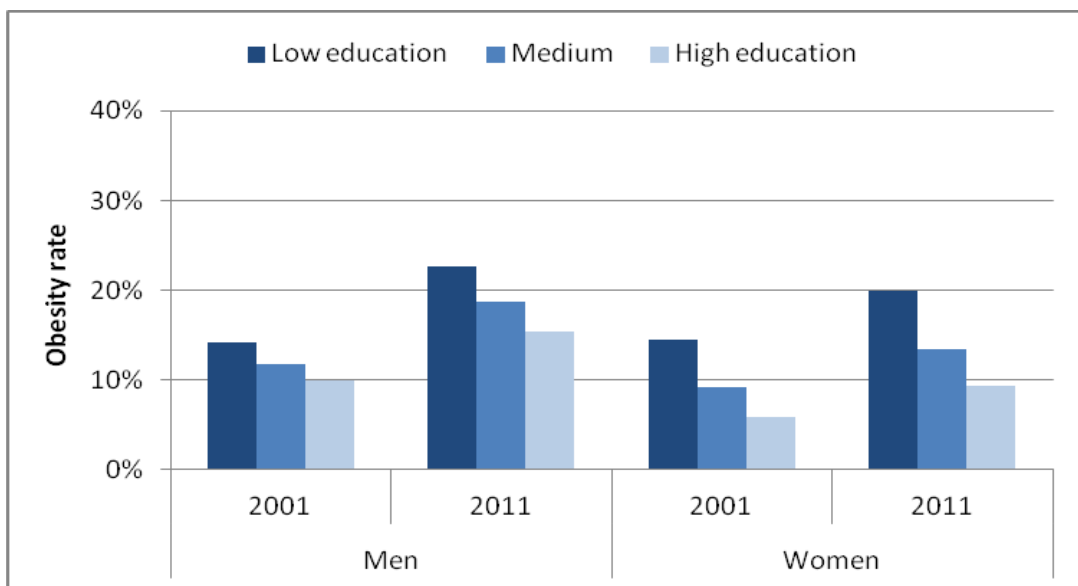


Figura 7. Prevalencia de obesidad en España por nivel de educación y sexo. Fuente: OECD Health Statistics 2014.

## 5. Morbilidad asociada a la obesidad

La obesidad se considera factor de riesgo de muchas enfermedades crónicas. Por encima del 70% de los individuos obesos tienen al menos un problema de salud relacionado con su obesidad. Gut et al (38), ponen de manifiesto que el riesgo relativo de presentar enfermedades en los individuos obesos es de 6,74 en hombres y 12,41 en mujeres para la diabetes tipo 2; de 1,84 en hombres y 2,42 en mujeres para la hipertensión arterial; de 1,72 en hombres y 3,10 en mujeres para la enfermedad coronaria; de 4,20 en hombres y 2,64 en mujeres para la osteoartritis; de 1,82 en hombre y 2,62 en mujeres para el cáncer de riñón y de 3,22 para el cáncer de endometrio. Según datos de la OMS, el sobrepeso y la obesidad suponen la quinta causa de muerte a nivel mundial, de forma que cada año fallecen como consecuencia de ello 2,8 millones de personas en la edad adulta.

### 5.1. Enfermedades metabólicas

La diabetes mellitus (DM) tipo 2, se asocia a un incremento del peso en el individuo. El 80-90% de los pacientes con DM-2 presentan obesidad mórbida (39), y la resistencia a la insulina es un factor precursor de ambas patologías en individuos de alto riesgo cardiovascular. La distribución de la grasa corporal también juega un papel importante como factor de riesgo de desarrollo de DM. La resistencia a la insulina (RI) precede el desarrollo de la hiperglucemia y la aparición de la DM en aquellos individuos en los que las células  $\beta$ -pancreáticas no son capaces de compensar la RI (39).

En la RI se requiere más insulina para obtener los efectos biológicos que se consiguen con menos insulina en un individuo sano y es lo que define el cuadro. A medida que aumenta la RI, las células  $\beta$ -pancreáticas incrementan su actividad para mantener estable la glucemia. La función de los islotes  $\beta$ -pancreáticos en el momento

del diagnóstico se encuentra reducida en un 50%, independientemente del grado de RI (40).

Las alteraciones del perfil lipídico en los pacientes con obesidad se deben a alteraciones en la homeostasis de la glucosa y la insulina, debido a la sensibilidad de la lipoproteinlipasa a los niveles de insulina. Un aumento en los niveles de insulina en sangre desencadena una menor activación de la lipoproteinlipasa y como consecuencia genera un aumento de los triglicéridos, que genera un aumento de los niveles de colesterol en sangre, con elevación de las concentraciones de LDL-colesterol y disminución de los niveles de HDL-colesterol, lo que genera un aumento del riesgo aterogénico (41).

La enfermedad del hígado graso no alcohólico representa un amplio espectro de enfermedades que van desde la esteatosis benigna, pasando por la esteatohepatitis, hasta la cirrosis y el cáncer hepatocelular, en los casos más graves. La enfermedad del hígado graso no alcohólico se caracteriza histológicamente por una acumulación de grasa en el hígado superior al 5-10% de su peso, la aparición de focos de inflamación, fibrosis e incluso cirrosis (42).

El hígado graso no alcohólico ha aumentado su prevalencia en paralelo con el incremento de casos de la obesidad y de la DM, y se está convirtiendo en la causa más frecuente de enfermedad hepática en el mundo occidental (43). Hasta el 26% de pacientes con hígado graso no alcohólico pueden evolucionar hacia cirrosis y finalmente entre el 4-7% de los casos podrán desarrollar un hepatocarcinoma (44).

## **5.2. Enfermedad cardiovascular**

La obesidad se considera un factor de riesgo para el desarrollo de patología cardiovascular a través de la HTA, diabetes o dislipemia o a través de otros factores como son las alteraciones de la coagulación o la presencia de un estado inflamatorio crónico por la presencia de citoquinas inflamatorias.

El riesgo de desarrollar una insuficiencia cardiaca en el paciente obeso se duplica (45). La obesidad se puede asociar a una hipertrofia de ventrículo izquierdo debido al aumento del volumen telediastólico y de la presión de llenado. Este estado

de sobrecarga cardiaca puede abocar en una insuficiencia cardiaca, una arritmia ventricular, un infarto agudo de miocardio, o incluso la muerte súbita (46).

Existen estudios (47) que confirman la existencia de una fuerte relación entre la obesidad y la HTA como factores de riesgo en el desarrollo de la denominada obesidad visceral. La prevalencia de la HTA entre los hombres es del 15% para aquellos con un IMC < 25, y del 42% para aquellos con un IMC>30; a las mujeres estos porcentajes son del 15% y del 38%, respectivamente (48).

### **5.3. Alteraciones respiratorias**

La obesidad altera la mecánica ventilatoria, el intercambio de gases y la respiración tanto a nivel central como periférico. Esta produce una disminución en el volumen respiratorio de reserva como consecuencia del aumento de la presión que ejerce la grasa abdominal sobre el diafragma y estructuras torácicas. Cuando se alcanza la obesidad extrema, también disminuirá la capacidad vital, así como la capacidad pulmonar total. Por tanto, los obesos van a dedicar mayor energía y mayor consumo de oxígeno que conllevará a una ineficiente respiración que podrá desembocar en una insuficiencia respiratoria ante cualquier problema pulmonar sobreañadido. Además, Los individuos obesos presentan un patrón respiratorio alterado, con un aumento de la frecuencia respiratoria en un 40% más que en los individuos no obesos y hasta un 60% en el caso de pacientes con obesidad mórbida (49).

- **Síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS)**

Se considera el trastorno respiratorio más característico en el paciente obeso. Viene definido por la presencia de colapsos intermitentes de la vía respiratoria superior denominadas apneas o hipopneas. Además, se puede asociar un estrechamiento de las vías aéreas superiores debido a la acumulación de grasa en la región cervical. Se acompaña de ronquidos nocturnos, sueño superficial e hipersomnolencia diurna compensatoria que alteran de manera importante la calidad de vida de estos pacientes. La prevalencia en hombres es del 50% y en mujeres del 8% cuando el IMC supera los 30 kg/m<sup>2</sup>; y en la obesidad mórbida (IMC>40) del 80% en hombres y del 50% en mujeres (50).

Las apneas producen efectos adversos, como desaturaciones de hemoglobina, fluctuaciones en la presión arterial y en la frecuencia del sueño (49). El tratamiento de elección es el uso de dispositivos que aplican presión continua positiva por vía nasal (CPAP). El síndrome se asocia directamente con el desarrollo de la HTA y enfermedades cardiovasculares.

#### **5.4. Enfermedades digestivas**

- **Reflujo gastroesofágico (RGE)**

La prevalencia del RGE es del 8-26% en la población general. En el estudio NHANES (51) indicaron que, por cada incremento de 5 puntos en el IMC, el riesgo de desarrollar reflujo aumentaba 1,2 veces. El 39% de los individuos con un IMC >30 presenta síntomas; y cuando el IMC se encuentra por encima de 35, los síntomas aparecen en el 53-61 % de los casos (52). Además, patologías que a menudo se presentan en el individuo obeso como la hernia de hiato, un vaciado gástrico enlentecido o una excesiva relajación del esfínter esofágico, favorecería el reflujo de ácido hacia el esófago en los pacientes con obesidad (53).

- **Colelitiasis**

En la población general la prevalencia de la enfermedad oscila entre el 2 y el 15%, en los obesos aumenta hasta el 21-41% (medida por ultrasonografía) (54). Por tanto, la obesidad se considera un factor de riesgo para el desarrollo de colelitiasis.

#### **5.5. Infertilidad y sobrepeso**

El hiperinsulinismo presente en las mujeres obesas favorece la producción de andrógenos ováricos (testosterona y androstendiona) (55).

El síndrome de ovario poliquístico es característico de mujeres con obesidad (56). Por otro lado, se ha descrito un descenso en la fecundidad que es mayor cuando existe sobrepeso u obesidad en cualquier miembro de la pareja (57). En el caso de los hombres, existe una mayor prevalencia de oligospermia, impotencia, niveles bajos de testosterona y disminución de la libido (58).



## **5.6. Alteraciones osteoarticulares**

Se da un aumento de prevalencia en patología osteoarticular como artritis , osteoporosis, alteraciones del túnel carpiano, fascitis plantar, hernias discales, lumbalgias. Recientemente el Centro de Control de Enfermedades de los EEUU ha publicado que el 31% de los obesos adultos habían sido diagnosticados de artritis en comparación con el 16% de los individuos sin sobrepeso (60). El grado de obesidad está relacionado directamente con la intensidad de la afectación articular.

## **5.7. Enfermedades neoplásicas**

La obesidad se relaciona con un incremento de la mortalidad por distintos tipos de cáncer ( 33% en los hombres y del 55% en mujeres con obesidad) (56).

Varios estudios han demostrado la asociación entre la obesidad y el desarrollo de algún tipo de cáncer, como el de endometrio, riñón, vesícula biliar, mama y colorectal (61) .

## **5.8. Alteraciones de la salud mental**

La obesidad asocia mayor incidencia de trastornos afectivos relacionados con la baja autoestima, con una distorsión de la imagen corporal, y con dificultades en las relaciones sociales y laborales. Hasta el 30% de los obesos tratados padecen depresión o alguna otra alteración psicológica como ansiedad (62).

## **5.9. Síndrome metabólico**

La existencia de desórdenes metabólicos como la HTA, la hiperglucemia y la gota, confieren un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. Vague (4) destacó que la adiposidad de tipo androide se encontraba frecuentemente

asociada a desórdenes metabólicos con un mayor riesgo de padecer DM y enfermedades cardiovasculares.

En 1988 se describió por primera vez el denominado Síndrome X como la confluencia de hipertensión arterial (HTA), DM y dislipemia. La OMS definió el Síndrome Metabólico (SM) y en esta primera descripción, se consideró la resistencia a la insulina (RI) como un factor desencadenante del síndrome, y por tanto la contemplaron como una condición indispensable para el diagnóstico. Además, se debían cumplir al menos dos de los siguientes factores de riesgo: obesidad, HTA, hipertrigliceridemia o microalbuminuria (63). En la descripción de 2001 del National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATPIII), se modificaron los criterios para diagnosticar el SM: la RI ya no era un factor indispensable para el diagnóstico del síndrome, era suficiente con tener 3 de los 5 primeros citados anteriormente, RI incluida (64). En el año 2005, la International Diabetes Federation (IDF) junto con la American Heart Association / National Heart, Lung, and Blood Institute (AHA / NHLBI) consensuaron una descripción del SM.

Acordaron que la obesidad visceral, calculado mediante el perímetro de la cintura, era una condición indispensable para el diagnóstico del síndrome, aunque no establecieron unos perímetros de circunferencia fijos, sino que los fijaron en función del grupo étnico (65). Así, la obesidad se empezó a considerar como un factor clave en el desarrollo del SM. En el año 2009, la agrupación de varias entidades internacionales definió el SM, y lo recogieron en el documento de “Harmonizing the Metabolic Syndrome” (66). En la **Tabla 4** se muestra de manera comparada y a modo de resumen la definición de SM entre los diferentes organismos.

En resumen, en 1988 para la OMS era indispensable la presencia de la resistencia a la insulina y 2 de los 4 factores que se describen. La ATPIII en 2001 lo definía con la presencia de 3 de los 5 criterios de la tabla. La IDF en 2005 definió el SM con la presencia de obesidad abdominal acompañada de 2 de los 4 factores restantes. Y por último, el Consenso de 2009, definió el SM con la presencia de 3 de los 5 parámetros especificados en la tabla al igual que el ATP III.

En la población caucásica se toma como referencia los criterios de la IDF (perímetro de la cintura en hombres debe ser  $\geq 94$  cm y en mujeres  $\geq 80$  cm o los de la AHA/NHLBI (donde el perímetro de cintura debe de ser  $\geq 102$  cm en los hombres y

≥ 88 cm en las mujeres), éste último coincide con las directrices sobre obesidad del National Institute of Health (NIH)

	OMS 1988	ATP III 2001	IDF 2005	Consenso 2009
Glucemias en ayunas	≥110mg/dl	≥110 mg/dl	≥100 mg/dl	≥ 100 mg/dl
Perímetro abdominal	IMC ≥30 y/o índice cintura/cadera>0,9 en hombres y >0,85 en mujeres	Perímetro de cintura >102 cm en hombres y >88 cm en mujeres	Caucasicos Cintura >94 cm hombres y > 80 en mujeres	Según grupo étnico
Triglicéridos plasmáticos	≥150 mg/dl	≥150 mg/dl	≥150 mg/dl o en tratamiento	≥150 mg/dl o en tratamiento
descenso HDL- Colesterol	<35 mg/dl en hombres o <39 mg/dl en mujeres	<40 mg/dl en hombres o <50 mg/dl en mujeres	<40 mg/dl en hombres o <50 mg/dl en mujeres	<40 mg/dl en hombres o <50 mg/dl en mujeres
Tensión arterial	≥140/90 mmHg o en tratamiento	≥130/85 mmHg o en tratamiento	≥130/85 mmHg o en tratamiento	≥130/85 mmHg o en tratamiento

Tabla 4. Criterios diagnósticos del Síndrome Metabólico. 3 de los 5 criterios son necesarios para definir SM.

## 6.Tratamiento de la obesidad

El tratamiento de la obesidad mórbida tiene como objetivo disminuir el acúmulo de masa grasa, conseguir reducir las complicaciones asociadas, mantener la pérdida de peso alcanzada, mejorar la calidad de vida e implementar hábitos y conductas saludables. Todo esto es complejo y conlleva muchas dificultades en la clínica habitual.

La Estrategia NAOS (Estrategia para la Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad), que se inicia en el año 2005 desde el Ministerio de Sanidad y Consumo tiene como objetivo sensibilizar a la población del problema que supone la obesidad

para la salud e impulsar iniciativas que contribuyan a promocionar hábitos de vida saludables (62).

La Sociedad Española de Médicos de Atención Primaria (SEMERGEN), la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) y la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN) publicaron una estrategia en el año 2007, con el objetivo de prevenir, diagnosticar y tratar el sobrepeso y la obesidad en la población general (67).

Por otro lado, se formularon recomendaciones a nivel internacional según el método propuesto en 2008 por la Asociación Europea para el Estudio de la Obesidad (68).

En líneas generales el abordaje terapéutico del SM está basado en (16):

- Favorecer la pérdida de peso o evitar un mayor incremento de peso.
- Controlar los factores de riesgo o enfermedades asociadas.
- Prevenir la recuperación del peso a largo plazo.
- Estimular la calidad de vida de los pacientes.

La intervención dietética y el aumento de la actividad física son dos de los pilares fundamentales en el abordaje terapéutico de la obesidad. Y toma importancia el apoyo psicológico y social en el intento de mejorar los cambios en los hábitos alimentarios y de actividad física de los individuos obesos.

Aún así, los tratamientos dietéticos suelen resultar desalentadores en sujetos con obesidad mórbida, lo que hace que deban recurrir a otras opciones más agresivas como la cirugía bariátrica para mantener la pérdida ponderal que ha demostrado ser un tratamiento eficaz a largo plazo reduciendo significativamente las comorbilidades de la obesidad (69).

### **6.1 Tratamiento dietético**

Está demostrado que las dietas hipocalóricas y las dietas hipograsas con reducción de calorías o sin reducción de estas, son tratamientos eficaces en la pérdida de peso, según la OMS (70).

La North American Association for the Study of Obesity, el National Heart, Lung, and Blood Institute y el National Institutes of Health (71), en el año 2000

recomendaban una reducción en la ingesta calórica de 500 a 1000 kcal respecto a las necesidades calóricas siguiendo el esquema de una dieta hipocalórica convencional.

En Europa, es la European Association for the Study of Obesity es su Guía de Prácticas clínicas de 2008 (68) la que recomienda una reducción calórica en la dieta entre 500 y 1.000 kcal.

En nuestro entorno tras el último Consenso en el año 2011 entre la Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FESNAD), y la SEEDO se establecieron las condiciones que se deberían cumplir en cualquier protocolo de tratamiento dietético para la obesidad (72).

- Alcanzar una disminución de la grasa corporal preservando al máximo la masa magra.
- Que fuera realizable por un espacio de tiempo prolongado
- Eficaz a largo plazo, esto es, manteniendo el peso perdido.
- Prevenir futuras ganancias de peso.
- Conllevar una función de educación alimentaria que destierre errores y hábitos de alimentación inadecuados.
- Disminuir los factores de riesgo cardiovasculares asociados a la obesidad (hipertensión arterial, dislipemia, prediabetes o diabetes mellitus)
- Mejorar otras comorbilidades vinculadas al exceso de peso (apnea del sueño, artrosis, riesgo neoplásico, etc...)
- Inducir una mejoría psicósomática con recuperación de la autoestima.
- Aumentar la capacidad funcional y la calidad de vida.

Así se han definido varios tipos de dietas. Las **dietas hipocalóricas**, son aquellas en las que se origina un déficit calórico entre 500-1000 kcal/día, con el objetivo de alcanzar una pérdida de peso de aproximadamente 0,5 – 1 kg por semana. Proponen una cantidad de 1000-1200 kcal/día en mujeres y 1500-2000 kcal/día en varones. Es necesario aumentar el porcentaje del aporte calórico total que corresponde a las proteínas, situándose al menos en 1g/kg/día de proteína en la dieta (73).

Por otro lado, las **dietas de muy bajo contenido calórico** (DMBC), aportan entre 450 y 800 kcal al día (incluyendo además entre 0,8-1,5 g/kg/día de proteínas). Indicadas solamente cuando es necesaria una pérdida de peso rápida, como por ejemplo pacientes con obesidad extrema y una insuficiencia respiratoria severa u otras

patologías graves asociadas a la obesidad que responde a la reducción ponderal, como la DM tipo 2, HTA, dislipemia o SAOS (88). Son capaces de alcanzar una reducción de peso inicial de unos 12-35 kg, pero con el problema de poder recuperar posteriormente el peso perdido. Los resultados en un año de seguimiento son similares a los de las dietas hipocalóricas tradicionales por lo que hay autores (74) que desaconsejan las DMBC argumentando la posibilidad de efectos secundarios.

Y por último encontramos las conocidas como **dietas hiperproteicas** (DHP), las cuales modifican la proporción de macronutrientes de la dieta. Consisten en un aumento en la proporción de proteínas sobre los hidratos de carbono con lo que se pretende alcanzar una mayor pérdida de peso. Esta dieta se basa en su mayor efecto saciante de las proteínas (75). En las DHP suponen un aporte de al menos el 20 o el 30% del contenido calórico, a diferencia del aporte de una dieta habitual que no sobrepasaría el 15%. En el Consenso FESNAD-SEEDO (76) se establece que la DHP favorece la preservación de la masa magra mejor que una dieta rica en hidratos de carbono y puede inducir a corto plazo, mayor pérdida de peso que una dieta convencional.

## **6.2. Ejercicio físico**

El balance calórico se va a afectado directamente por el ejercicio físico, el cual ayuda a establecer el gasto energético negativo. Durante la realización de ejercicio a una intensidad moderada se produce una mayor utilización de la grasa como combustible energético (77).

En la revisión de La Colaboración Cochrane (78) se encontró que el ejercicio por sí solo, tiene un alcance en la pérdida de peso limitado. Sin embargo, al combinarlo con la dieta se observó una pérdida de peso de 1,5 kg superior si comparamos con la pérdida de peso ofrecida sólo con la dieta.

La recomendación actual es realizar un ejercicio físico semanal que alcance un consumo de 1200 a 1800 kcal, para alcanzar una reducción de alrededor de 2 kg y aproximadamente un 6% de pérdida de grasa abdominal entre 6 y 12 meses (79).

### 6.3. Tratamientos farmacológicos

El tratamiento farmacológico de la obesidad ha cambiado en los últimos 50 años, pues muchos de los fármacos utilizados han sido retirados, y otros están surgiendo como nuevas terapias en pautas a largo plazo en base a nuevos estudios que han ofrecido evidencia científica que faltó en los comienzos de su utilización.

El tratamiento farmacológico nunca debe ser una primera opción y menos si se considera como única opción. La recomendación para su utilización sería si después de un periodo de tratamiento sólo con dieta no se hubiera conseguido una pérdida equivalente al 5% del peso inicial (80).

Los tratamientos farmacológicos de los que se dispone en la actualidad son para tratamientos a largo plazo, ya que se ha visto que si se interrumpe el tratamiento se recupera el peso perdido (81). Es de vital importancia que se acompañe de cambios en el estilo de vida, dieta y ejercicio para obtener unos resultados óptimos y mantenerlos en el tiempo. Si dividimos los fármacos por su mecanismo de acción (82):

- Fármacos anorexígenos o inhibidores del apetito y/o estimulares de la saciedad:
  - Adrenérgicos controlados: dietilpropión, mazindol, fentermina.
  - Adrenérgicos no controlados: fenilpropanolamina, efedrina.
  - Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina:  
Fluoxetina, fenfluramina, dexfenfluramina, setralina.
  - Acción dual (adrenérgico-serotoninérgico): sibutramina.
  - Antagonistas del receptor cannabinoide CB1: rimonabant.
- Fármacos que aumentan el gasto energético: Termogénicos-lipolíticos: efedrina, cafeína.
  - Fármacos que interfieren con la absorción o el metabolismo de los nutrientes.
    - Inhibidores de la absorción de grasas: Orlistat.

En España, solo esta comercializado el Orlistan por Agencia Española del Medicamento.

#### 6.4. Terapia cognitivo-conductual

Una de las causas de la obesidad y con ello el síndrome metabólico, son las conductas compulsivas a la hora de alimentarse. El aumento de peso se da en aquellas personas en las que el acto de comer se realiza de manera compulsiva. Las conductas patológicas más frecuentes son adicciones al chocolate, café, frutos secos, refrescos, etc. El picar entre horas durante todo el día, los atracones de comida, levantarse por la noche a comer y permanecer en ayuno durante el día (síndrome del comedor nocturno), son otras de las conductas patológicas asociadas con la ganancia ponderal. Se ha visto que hasta un 34% de los obesos que acuden a programas de adelgazamiento presentan conductas de este tipo y cumplen criterios de trastorno por atracón (83).

Los tratamientos con psicoterapia cognitivo-conductual han ofrecido mayor eficacia en el control de estas conductas, aunque faltan estudios con resultados a largo plazo ( $\geq 5$  años). La psicoterapia asociada a técnicas conductuales ha demostrado un mayor cumplimiento terapéutico (84).

La terapia conductual está compuesta por diferentes herramientas como la auto monitorización por parte de los pacientes, el control de los estímulos, la modificación del comportamiento cognitivo, el establecimiento de objetivos, un apoyo social, la mejora de la autoestima, la práctica de la asertividad, los ejercicios de relajación, una educación nutricional adecuada y una programación mental.

El tratamiento psicológico (terapia cognitivo-conductual), quiere alcanzar modificaciones en el estilo de vida y adoptar unos hábitos saludables que reduzcan y mantengan el peso a largo plazo. Este objetivo es difícil de alcanzar y en ocasiones es necesario plantear intervenciones más agresivas, como la cirugía bariátrica.

A los pacientes intervenidos quirúrgicamente no se les debe excluir del seguimiento psicológico, con el objetivo de enseñar nuevos hábitos en el consumo alimentario, adaptado a las necesidades de cada paciente para conseguir mantener los resultados de la cirugía bariátrica.



## 6.5. Tratamiento quirúrgico

### 6.5.1. Evolución histórica en el tratamiento quirúrgico

La cirugía de la obesidad, llamada cirugía bariátrica, no es una técnica nueva, las primeras intervenciones datan del año 1952 y estaban basadas en resecciones de intestino delgado con la premisa de que toda persona con una menor longitud del intestino delgado adelgazaba.

Aparecieron graves complicaciones y consecuencias metabólicas secundarias a las cirugías de bypass yeyunocólico y yeyunoileal que obligaron a modificarlas para reducir las devastadoras consecuencias metabólicas como eran las alteraciones hidroelectrolíticas, la malnutrición calórico-proteica, las complicaciones entéricas, la colelitiasis, la artritis, la neuropatía periférica e incluso el fallo hepático o renal.

En la década de los setenta y ochenta se simplificaron las técnicas quirúrgicas con la introducción de intervenciones gástricas puramente restrictivas (gastroplastias verticales y bandas gástricas). Estas técnicas presentaban menores complicaciones metabólicas a largo plazo, aunque sus resultados no fueron los esperados y no estaban exentas de complicaciones propias de la técnica (inclusión de las bandas, perforaciones tardías, herniaciones de las plastias, etc).

Algunas de estas técnicas de cirugía bariátrica fracasaron en su efectividad a largo plazo y se abandonaron. La introducción de técnicas laparoscópicas ha ampliado el campo de la cirugía bariátrica, al aumentar la variedad de procedimientos y el número de intervenciones realizadas desde su utilización.

La SECO declaró en la Declaración de Salamanca (85) la “técnica ideal” o “gold estándar” como aquella que es capaz de beneficiar a más del 75% de los pacientes a largo plazo, con una morbilidad que no supere el 10% y una mortalidad no superior al 1%, así como con un número de revisiones o reintervenciones por debajo del 2% anual. Además, la técnica ideal deberá ser reproducible, proporcionar una buena calidad de vida y provocar pocos efectos secundarios.

Un exceso de peso superior a 45 kg o el 100% del peso ideal fueron los criterios iniciales para establecer una indicación quirúrgica del tratamiento de la obesidad. A partir de 1991, el comité de expertos del Instituto National Institutes of

Health (NIH) estadounidense consideró que un paciente con obesidad debería ser candidato a cirugía bariátrica cuando el IMC fuese  $\geq 40$  ó  $\geq 35$  y coexistieran con comorbilidades secundarias al exceso de peso. Para garantizar el éxito de las intervenciones, los pacientes debían cumplir unos requisitos básicos preoperatorios (68): adhesión a un protocolo preoperatorio, pérdida de peso del al menos el 10% previo a la cirugía, cambios en hábitos saludables implementando el ejercicio y los cambios en la alimentación.

Hoy en día, los criterios de indicación de cirugía bariátrica adoptados por las diferentes sociedades de cirugía bariátrica de los diferentes países están basadas en el Consenso de la Sociedad Americana de Cirugía Bariátrica y Metabólica (ASMBS) (86). Se deben alcanzar una serie de requisitos para afrontar la cirugía bariátrica:

- Un equipo multidisciplinar que incluye un cirujano, anestesista, nutricionista, enfermero, personal administrativo con experiencia, equipo médico colaborador que deberá estar disponible si fuera preciso que cuente con un cardiólogo, neumólogo, psiquiatra y psicólogo.
- Los candidatos deben haber intentado perder peso haciendo dieta, haber seguido consejos de nutrición, y programas de pérdida de peso, pero no es necesario como condición previa a la operación.
- Los candidatos deben tener una evaluación médica completa antes de la cirugía.
- Los procedimientos quirúrgicos actualmente recomendados incluyen: byapss gástrico, gastrectomía vertical, bypass tipo SADIS, cruce duodenal. Los procedimientos serán indicados de forma individualizada y por un equipo multidisciplinar teniendo en cuenta las características de cada paciente.
- En el tratamiento quirúrgico se incluyen el uso de laparoscópica y la cirugía abierta.
- Se puede considerar la posibilidad de ampliar los beneficios de la cirugía bariátrica para pacientes con obesidad tipo I (IMC < 30), que tienen una condición clínica que puede ser curada o mejorada notablemente por la sustancial pérdida de peso mantenido en el tiempo.

- La cirugía bariátrica también estaría indicada por su relación coste-beneficio. Se ha demostrado su rentabilidad en menos de 5 años.

La SECO, junto con otras Sociedades españolas, ha matizado las propuestas de la ASMBS especificando los criterios de cirugía metabólica y ampliado las indicaciones reflejadas en el último Consenso FESNAD-SEEDO, de las que destacan:

- La cirugía metabólica está indicada en pacientes con obesidad ( $IMC \geq 35$ ), especialmente si está acompañado de comorbilidades difíciles de controlar con cambios en el estilo de vida y tratamiento farmacológico.

- No recomendar de manera indiscriminada la cirugía metabólica en DM tipo 2 con IMC 30-35, debido a insuficientes datos a largo plazo sobre reducción de morbimortalidad cardiovascular y/o disminución de complicaciones microvasculares, se puede plantear su aplicación en ciertas situaciones.

- Analizando la experiencia positiva de algunas series de casos y ensayos clínicos pequeños a corto y medio plazo en la mejoría del control glucémico y de las comorbilidades asociadas, consideran que podrían ser candidatos a cirugía metabólica los pacientes con DM tipo 2 e IMC 30-35 que cumplan los siguientes requisitos:

- Pacientes en los que, habiendo sido evaluados por un endocrinólogo en el contexto de un equipo interdisciplinar, se haya descartado otras formas de diabetes diferentes de la DM tipo 2 (diabetes tipo 1)

- Que muestren un deterioro progresivo del control glucémico ( $HbA1c > 7,5\%$ ) a pesar del tratamiento convencional optimizado y en los que, especialmente, coexistan otras comorbilidades mayores no controladas adecuadamente (dislipemia aterogénica, HTA, SAOS).

- La inclusión de pacientes fuera de estos criterios debería formar parte de protocolos de investigación bien diseñados y controlados, confrontados a tratamientos convencionales basados en cambios del estilo de vida y tratamiento farmacológico habitual.

- Señalan que las tasas de remisión son menores cuando el diagnóstico de la diabetes supera los 10 años, el paciente sigue tratamiento con insulina y existe evidencia de escasa reserva pancreática.

La Federación Internacional de la Cirugía de la Obesidad (IFSO) en su último informe publicado en 2017 (87) se observa en Europa un total de 394.000 cirugías

entre 2014 y 2018. El 38,3% fueron bypass gástrico, y la gastrectomía tubular había presentado un ascenso rápido situándose actualmente en el 46% del total de los procedimientos de cirugía bariátrica realizados a nivel mundial.

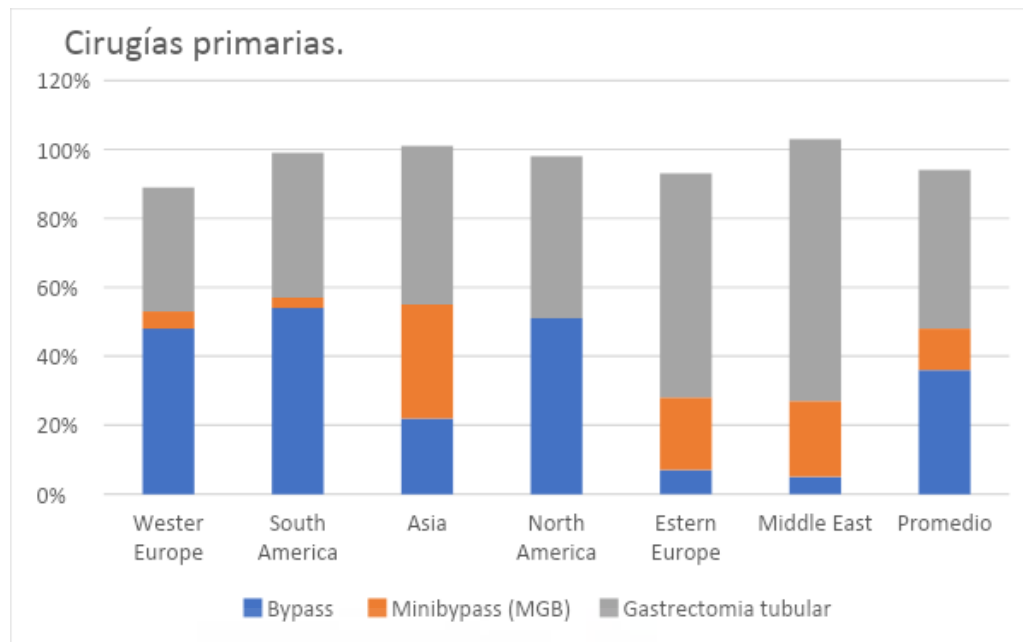


Tabla 5 Porcentajes de procesos quirúrgicos realizados. Años 2014-2018. *Metabolic /Bariatric Surgery Worldwide 2018.*

En la Tabla 5 se puede observar el predominio actual de la gastrectomía tubular sobre el bypass gástrico e incluso sobre técnicas más recientes como el minibypass gástrico (MGB).

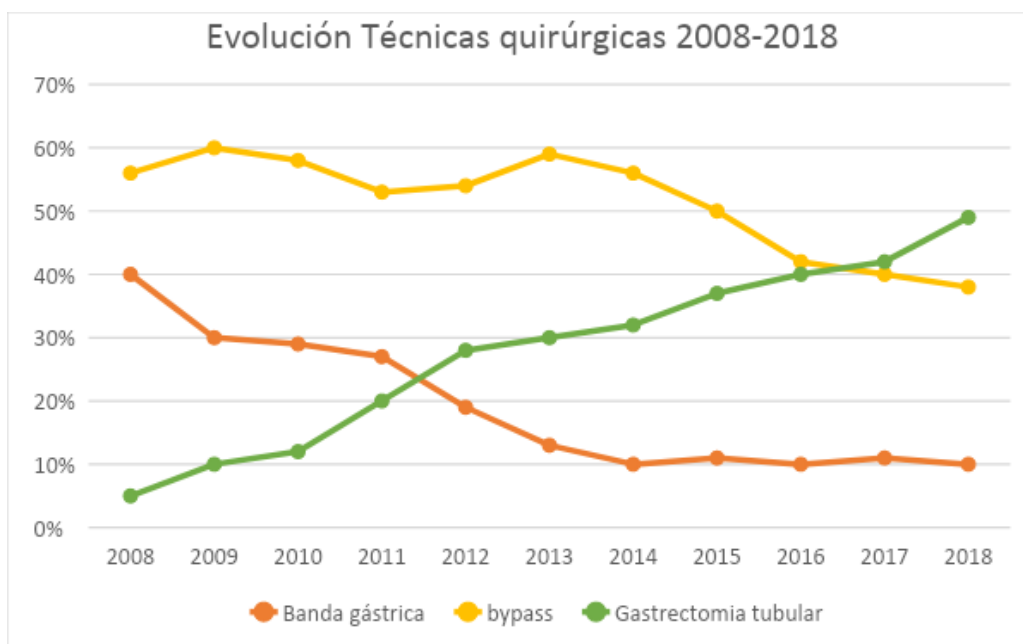


Figura 8 Evolución diferentes técnicas bariátricas empleadas a nivel mundial. *Metabolic/Bariatric Surgery Worldwide 2018. IFSO. (108).*

En la Figura 8 muestra el aumento y predominio de la gastrectomía tubular, superando en Europa por primera vez en el año 2016 al bypass gástrico. Este aumento se ha debido posiblemente por su fácil reproductibilidad, ausencia de complicaciones metabólicas y fácil adaptación postoperatoria de los pacientes sometidos a ésta técnica.

### 6.5.2. Técnicas restrictivas

En este tipo de técnicas se crea un pequeño remanente gástrico denominado reservorio o punch que es responsable de la sensación de saciedad precoz.

#### 6.5.2.1. Banda gástrica ajustable

En 1980, y de forma independiente, Molina en Houston y Kolle en Noruega diseñaron la primera banda de dacrón o nylon que se colocaba rodeando la parte superior del estómago, evitando así la división gástrica y sus posibles complicaciones. En 1985 Kuzmak colocó la primera banda ajustable. Consistía en un nuevo anillo de silicona dotado de una cámara interior inflable y conectada a un reservorio que se

anclaba a nivel subcutáneo, creando un circuito cerrado. En 1993, Belechew y Cadere presentaron el primer dispositivo para colocar por vía laparoscópica. Es la cirugía menos agresiva de los procedimientos ajustables.

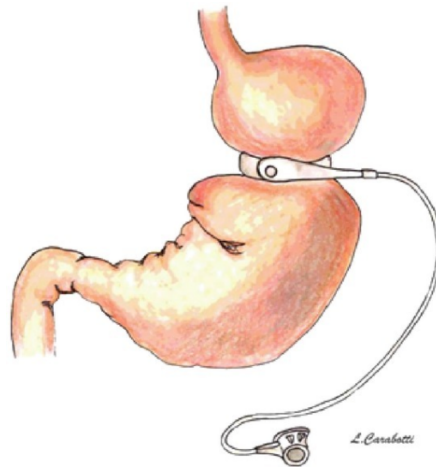


Figura 9. Banda gástrica ajustable.

La banda gástrica ajustable (Figura 9) permite ajustar el volumen de la restricción gástrica. La banda se puede ajustar para proporcionar aproximadamente una pérdida de 0,5 a 1 kg de peso por semana (88).

### 6.5.2.2 Gastrectomía tubular o manga gástrica

En la actualidad, La gastrectomía tubular laparoscópica ha despertado mucho interés. Esta intervención es la primera etapa restrictiva de otra técnica malabsortiva denominada Derivación biliopancreática o Cruce duodenal que posteriormente se describirá (Figura 10).

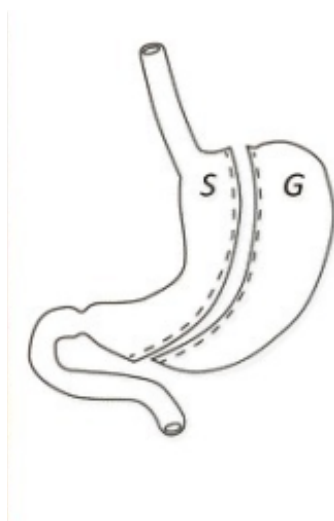


Figura 10 Gastrectomía tubular.

En la serie de 216 pacientes sometidos a gastrectomía vertical, Lee et al (89) mostraron una pérdida del 59% del exceso de peso inicial al año, en comparación con el 47% en los pacientes con banda gástrica y el 75% en los pacientes con bypass gástrico. Los defensores de esta técnica abogan por la pérdida de peso que puede ser tan buena o mejor que la obtenida con la banda gástrica ajustable y sin la necesidad de implantar un dispositivo médico, ni de frecuentes ajustes. Una revisión sistemática de 2017 mostró que es una técnica fiable a largo plazo, con pérdidas de exceso de peso de 62% a 8 años y con buen control de las comorbilidades asociadas (90).

### **6.5.3. Técnicas restrictivas-malabsortivas**

Son técnicas en las que mediante una derivación gastrointestinal se consigue generar un componente malabsortivo. Por tanto, la extensión de la derivación del tracto intestinal determinara el grado de malabsorción.

#### **6.5.3.1. Derivación biliopancreática (DBP) y cruce duodenal (CD)**

La intervención es una modificación de una operación muy malabsortiva realizada por primera vez por Scopinaro (91) en la década de 1970. La técnica tiene un componente restrictivo mediante gastrectomía horizontal y un efecto malabsortivo con un asa alimentaria, un asa biliopancreática larga y un corto canal común. Los resultados eran excelentes en cuanto a la pérdida de peso, pero presentaban casos graves de malnutrición proteica severa de por vida y úlceras de la anastomosis que ofrecían una muy mala calidad de vida.

En 1988, Hess (92) realiza una variante a esta técnica mediante una sección duodenal y anastomosis termino-terminal del asa alimentaria al duodeno proximal. Estas modificaciones eliminaban el síndrome de dumping y las úlceras marginales en los pacientes intervenidos (Figura 11).

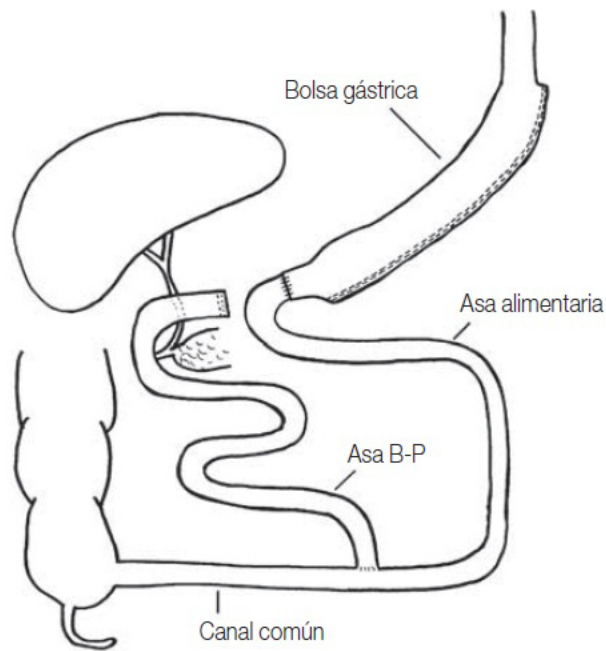


Figura 11. Cruce Duodenal

La pérdida de peso es excelente, en la serie de Marceau (93), de 457 pacientes, los sujetos perdieron el 73% del exceso de peso inicial. La mayoría de los pacientes presenta de tres a cinco deposiciones blandas al día y tiene un meteorismo importante como efectos adversos a la técnica. Además, presenta una mayor incidencia de morbilidad mayor (15%) y mortalidad (0,5-2,5%).

### 6.5.3.2. Bypass gástrico

Mason realizó el primer bypass gástrico en 1967, el cual consistía en una división horizontal del estómago y una gastro-yeyunostomía en asa. Hoy día se realiza por vía laparoscópica, reduciendo las estancias hospitalarias y las complicaciones postquirúrgicas. Es considerada la técnica de referencia frente al que comparar las demás intervenciones para perder peso (94).

Se confecciona una pequeña bolsa gástrica en la curvatura menor del estómago denominado punch de 15-20 ml. Este punch se anastomosa a un segmento de intestino delgado, conocido como asa de Roux (Figura 12). El alimento pasa de la bolsa gástrica al asa de Roux, que suele medir de 50 a 150 cm de longitud.



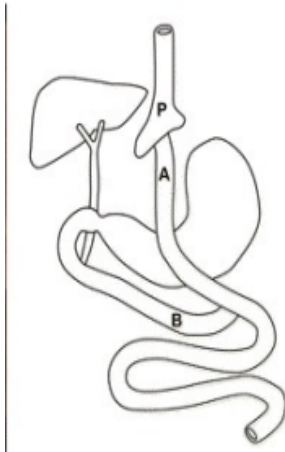


Figura 12 Bypass gástrico. Asa Alimentaria (A) ha sido anastomosada a la bolsa gástrica (P). El asa biliopancreática (B) recibirá los alimentos desde el asa alimentaria.

Los pacientes notan una sensación de saciedad precoz después de cada comida. El bypass gástrico también produce un grado de malabsorción por la separación del recorrido de los alimentos (asa alimentaria) de las secreciones biliopancreáticas (asa biliopancreática). El grado de malabsorción está directamente relacionado con la longitud de las asas alimentarias y biliopancreáticas (95).

La pérdida de peso suele producirse durante los 6-12 meses posteriores a la intervención, tras los que el peso tiende a estabilizarse. En términos generales, los pacientes suelen perder el 75% del exceso de peso inicial. El éxito en la pérdida de peso estará determinado en parte los los hábitos del paciente después de la intervención (dieta y ejercicio).

A pesar del hecho de que el bypass gástrico laparoscópico es una intervención mayor realizada en pacientes obesos, con comorbilidades cardíacas, pulmonares y endocrinas considerables, la mortalidad perioperatoria se mantiene baja: 0%- 0,4% (94,95).

### **6.5.3.3. Bypass duodenoileal en una anastomosis con gastrectomía vertical: SADIS-S**

El bypass duodenoileal en una anastomosis (SADIS-S) nació con la intención de simplificar el cruce duodenal (Figura 13). Se eliminó del cruce duodenal la conformación del asa en y de Roux, sustituyéndola por una anastomosis gastroileal. Se

evitaba el drenaje del duodeno en Y de Roux defendido por Hess, ya que el objetivo de la Y de Roux del cruce duodenal era que no hubiera tensión ni reflujo biliar; la anastomosis duodenoileal no es una anastomosis sometido a tensión por distancia y el reflujo biliar está descartado siempre que se preserve el píloro. La reducción a una sola anastomosis reducía el tiempo quirúrgico, el riesgo postoperatorio de fuga y otras complicaciones, y evita la apertura del mesenterio que tantos problemas pueden dar a los pacientes sometidos a bypass gástrico en Y de Roux.

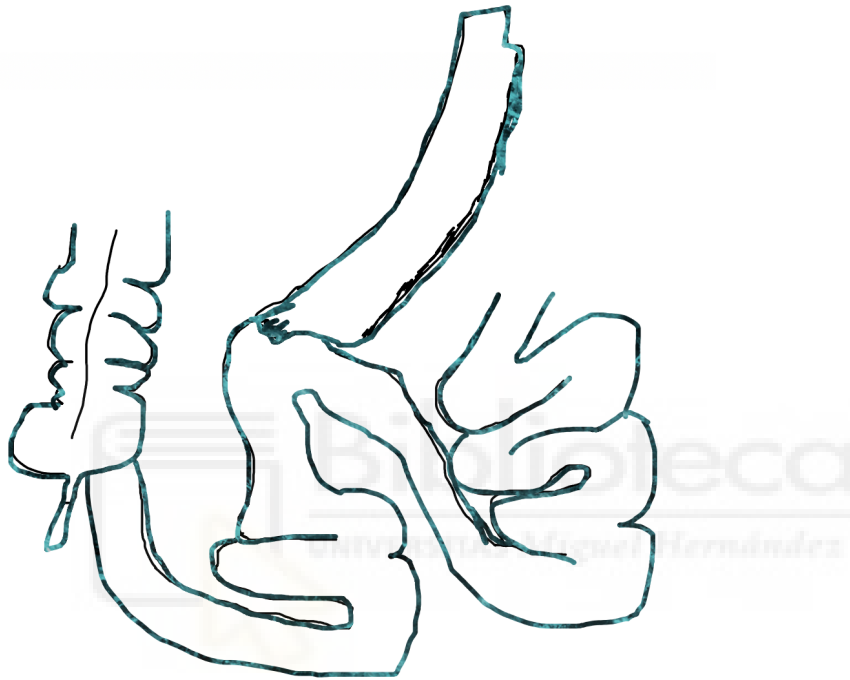


Figura 13. Bypass duodenoileal. SADIS. C.J.Díaz.

Mantiene las ventajas de las técnicas malabsortivas, pero es una técnica más versátil porque, en función del cirujano o de las características del paciente, se puede convertir en una cirugía tipo bypass gástrico, con la confección de un tubular estrecho y un bypass duodenoyeyunal (con más de 300 cm de asa común), o mantenerse dentro de los principios malabsortivos. Por ello a menudo se está considerando la cirugía malabsortiva de referencia en la actualidad (96).

#### 6.5.4. Cirugías emergentes mínimamente invasivas

Se han desarrollado otras alternativas para aquellos pacientes con miedo a la cirugía por el temor a las complicaciones operatorias y las consecuencias a largo plazo (95):

- **Balón intragástrico ajustable (BIG):** desarrollado por Brooks en 2004, esta nueva modalidad de BIG se basa en dos innovaciones: un sistema de anclaje que previene la migración del balón al intestino, y en segundo lugar, un catéter acoplado al mismo que permite regular el volumen en el transcurso del tratamiento. (97).

- **Prótesis intragástrica (ATIIP):** Se trata de un BIG que se implanta bajo control endoscópico y se fija vía percutánea la pared gástrica. Se conecta con un reservorio que permite regular su volumen. El estudio preliminar de Gaggiotti (98) muestra un porcentaje de exceso de peso perdido a 12 meses de 39%, describiendo como complicaciones: infección subcutánea en el 35% de los casos, y en un 15% explantación del reservorio.

- **Gastroplastia vertical endoluminal (EndoCinch):** FOGEL (99) en 2008 describió su uso para el tratamiento de la obesidad. Se realizan 7 suturas entrecruzadas desde fundus hacia zona distal, de modo que se limita la capacidad de distensión gástrica. La duración de la técnica es de unos 45 minutos, con pérdida media de 58,2% del exceso ponderal al año. No hay datos aún respecto a durabilidad y estabilidad de las suturas.

- **Gastroplastia transoral (TOGA):** esta técnica difiere de la anterior en que las suturas son transmurales y mecánicas. Se obtiene así una manga gástrica a lo largo de la curvatura y, mediante plicaturas sucesivas puede estrecharse la luz gástrica a voluntad.

- **Toxina botulínica antral:** La toxina botulínica tiene un potente efecto inhibitorio y de larga duración (2 a 4 meses) de las contracciones musculares, tanto de los músculos lisos como estriados. En el tratamiento de la obesidad aún no hay resultados concluyentes.

- **Bypass duodenoyeyunal endoscópico (Endobarrier):** consiste en implantar una manga que recubre 60 cm de luz duodenoyeyunal. De este modo, el bolo alimenticio sin sufrir desviación de su trayecto eludirá el contacto con los 60 cm proximales de la pared intestinal. Con ello, se obtiene un efecto de bypass similar al de

la técnica quirúrgica, aunque sin su componente restrictivo. Su colocación se realiza bajo anestesia, al igual que su retirada meses más tarde (100).

- **Estimulación gástrica implantable (marcapasos gástrico):** Esta técnica está basada en la modificación de la motilidad gástrica, reduciendo las contracciones de manera coordinada, modificando el vaciamiento normal del estómago y por tanto, prolongando la sensación de saciedad.

Los primeros estudios descritos de la utilización del marcapasos gástrico en el tratamiento de la obesidad son de 1992 por Cigaina, describiendo que la pérdida ponderal obtenida con este método es similar a la que confieren las técnicas quirúrgicas restrictivas.

Como limitación principal estaría la relacionada con el marcapasos en sí, por problemas de exteriorización de este y con la adecuada selección del paciente, en concreto con aspectos psicológicos, siendo poco eficaz en los casos de trastorno por atracón. Los resultados de un estudio multicéntrico europeo (101) así como de la experiencia americana, concluyen que el marcapasos es un procedimiento seguro con el que se obtiene una pérdida del exceso de peso rondando el 20% a los 6 meses.

## **7. Tolerancia alimentaria tras cirugía bariátrica**

La tolerancia oral a los alimentos puede afectar significativamente a la calidad de vida y la recuperación de los pacientes sometidos a GVL. El Analysis and Reporting Outcome System (BAROS), evaluó los resultados de la cirugía bariátrica según la pérdida de peso, la autoestima, la actividad física, el trabajo, las relaciones sociales y sexuales y la resolución o mejora de las comorbilidades y complicaciones. Sin embargo, no incluyó la tolerancia oral como parámetro de calidad de vida. Varios estudios han analizado la calidad de la ingesta de algunos tipos de alimentos tras un procedimiento bariátrico (102–104). La mayoría de los trabajos analizaron la tolerancia por grupos de alimentos, no aportando una información específica sobre la correcta reintroducción de los diferentes tipos de alimentos de un paciente intervenido de cirugía bariátrica y en concreto después de la GVL. No hay ningún trabajo previo que evalúe la tolerancia oral a alimentos específicos durante el primer año de postoperatorio después de una GVL.

## 8. *Microbiota intestinal: conceptos y conocimientos actuales*

Los microbios que residen en el cuerpo humano constituyen nuestra Microbiota. Los componentes de la microbiota (bacterias, arqueas, virus y eucariotas) han mostrado que interactúan entre ellos y con el huésped. El término **metagenoma** se refiere al conjunto de genes de los miembros de la microbiota y el término de **microbioma** se define a la totalidad del hábitat, incluyendo los microorganismos (bacterias, arqueas, virus y eucariotas), su genoma (es decir, los genes) y las condiciones ambientales del entorno, es decir, es el ecosistema que engloba los microorganismos de un determinado ambiente junto con las interacciones de sus genes (105,106).

En las distintas regiones del cuerpo humano, durante las diversas fases de la vida y en los estados de salud y enfermedad se producen cambios en la composición de las comunidades bacterianas que habitan en él, lo que determina una biogeografía de las comunidades por el organismo (106,107). Además, se ha observado una variabilidad entre individuos sanos en la composición de la microbiota de distintas localizaciones como el intestino, la piel o la vagina.

El desarrollo de técnicas de biología molecular y análisis metagenómico han supuesto una revolución en microbiología ecológica (108), realizándose estimaciones por las que tan sólo se consigue cultivar en laboratorio entre el 0,0001 – 1% de las bacterias ambientales, generando conceptos como “la anomalía de recuento de la placa” (109). Esta desproporción entre los gérmenes cultivables y los que habitan los distintos nichos del cuerpo humano probablemente no es tan dramática, aunque se considera que la mayor parte de la composición de la microbiota ha sido desconocida hasta la fecha (110). El descubrimiento del microbioma se ha acompañado de un desarrollo de estudios ecológicos para determinar cómo se establece, mantiene y pierde la homeostasis en las distintas comunidades de especies de un hábitat.

### **8.1. Influencia de factores genéticos y ambientales en la microbiota intestinal**

La presencia de formas de vida microscópicas en mucosas internas y externas se asocia a procesos de cooperación evolutiva: a lo largo del tiempo la asociación entre el huésped humano y su microbiota asociada debió haber otorgado a ambos una ventaja en el ambiente, lo que permitió el éxito de su supervivencia como organismos simbiotes. Debido a que las bacterias aparecieron en la Tierra millones de años antes que cualquier célula animal o vegetal, se cree que el tracto gastrointestinal (TGI) de humanos y otros animales fueron colonizados progresivamente por microorganismos ambientales (111). Hoy en día, la microbiota gastrointestinal se considera como otro sistema biológico dentro del cuerpo humano, impulsando a algunos investigadores a utilizar el término “superorganismo” para definir la sólida relación entre nuestros tejidos y los millones de virus, bacterias, archaeas y eucariotas microscópicos que cohabitan en ellos.

El concepto de “superorganismo” hace referencia al cuerpo humano que está conformado por sus tejidos constituyentes, cuyas características como temperatura, pH y disponibilidad de nutrientes están determinadas por la interrelación entre su anatomía y fisiología, y trillones de microorganismos (microbiota), cuya abundancia numérica supera por mucho la abundancia numérica de todas las células eucariotas que lo forman. La estructura taxonómica y la actividad metabólica de la microbiota gastrointestinal varían considerablemente dependiendo de la región anatómica donde habitan y de otros factores asociados con su huésped. La salud del superorganismo depende de la homeostasis de sus tejidos y de su equilibrio con su microbiota.

Los cambios en la composición de la microbiota intestinal en respuesta a la ingesta alimentaria se llevan a cabo según las diferentes especies bacterianas estén mejor equipadas genéticamente para utilizar diferentes sustratos (112). Muchos estudios han demostrado que un aumento en la ingesta de grasas produce un incremento en el índice de bacterias grampositivas / gramnegativas.

Estudios recientes han encontrado que ratones libres de gérmenes (GF) en los que se sustituyó una dieta baja en grasas y rica en polisacáridos vegetales por una dieta rica en grasas y azúcares y baja en polisacáridos vegetales (dieta occidental),

experimentaron un cambio de su microbiota en sólo 1 día, presentando entonces un incremento de bacterias del filo Firmicutes y una disminución en Bacteroidetes (113–115). También se encontraron cambios importantes de la microbiota intestinal de los ratones tras sustituir la dieta estándar por una dieta rica en grasa. Esto se asoció con una disminución en Bacteroidetes y un aumento tanto de Firmicutes como de Proteobacterias. Además, los estudios con ratones han demostrado que las dietas reducidas en hidratos de carbono resultan en poblaciones enriquecidas por Bacteroidetes (116), mientras que las dietas restringidas en calorías previenen el crecimiento de *Clostridium coccooides*, *Bacillus*, *Lactobacillus* y bifidobacterias, que son los principales productores de butirato necesarios para la homeostasis del colonocito (136). Sólo un número limitado de ensayos clínicos en humanos ha evaluado los efectos de los cambios en los hábitos alimentarios en la microbiota intestinal (116–118). En un estudio de alimentación controlada en seres humanos que consumen una dieta alta en grasas/ baja en fibra o baja en grasa /alta en fibra, destacando el rápido efecto que la dieta puede tener (119).

Otro estudio demostró que los sujetos que consumen una dieta vegana o vegetariana tienen heces con un pH bajo, así como recuentos significativamente menores de *Bacteroides*, bifidobacterias, *Escherichia coli* y otras enterobacterias, respecto a controles (120). Una dieta vegetariana también se ha demostrado que disminuye la cantidad y cambia la diversidad de *Clostridium* IV y *Clostridium* XIV y XVII (121). Sin embargo, se necesitan grandes ensayos bien controlados para dilucidar los mecanismos que vinculan cambios en la dieta con alteraciones en la composición microbiana, así como las implicaciones que estos cambios pudieran tener sobre la salud y la enfermedad.

Unos de los hallazgos más sorprendentes es la pérdida de la diversidad de la microbiota intestinal en los países desarrollados, siendo el aumento del consumo de antibióticos, uno de los factores implicados más importantes; hay evidencia de alteraciones significativas en la microbiota después de un tratamiento antibiótico (122,123). Aunque los taxones afectados varían entre los sujetos, algunos taxones no se recuperan incluso varios meses después del tratamiento, y, en general, hay una reducción a largo plazo en la diversidad bacteriana (124). Recientemente se ha propuesto una correlación entre el consumo global creciente de antibióticos y el

aumento de peso o la obesidad en los seres humanos (125). Varios estudios han indicado que algunos antibióticos están asociados con el aumento de peso en los niños desnutridos, los recién nacidos y adultos (126,127), pero los mecanismos precisos por los cuales los antibióticos incrementan el peso no están bien caracterizados. Se ha sugerido que los antibióticos, tales como la avoparcina (un glicopéptido estructuralmente relacionado a la vancomicina) ejercen una presión selectiva sobre las bacterias grampositivas y producen colonización por *Lactobacillus*, resistentes a glicopéptidos. Este antibiótico es usado como promotor del crecimiento en los animales. *Lactobacillus* se encuentra en una alta concentración en las heces de los pacientes obesos, por lo que podría ser responsable de la ganancia de peso observada en pacientes previamente tratados con vancomicina.

Por otro lado, otros estudios recientes también han demostrado los efectos beneficiosos de los antibióticos sobre las anormalidades metabólicas en ratones obesos, dando lugar a una reducción de la intolerancia a la glucosa, el aumento de peso, la endotoxemia metabólica y los marcadores de la inflamación y el estrés oxidativo (128). Estos efectos se asociaron con una diversidad reducida de la microbiota intestinal (129). El tratamiento antibiótico combinado con una dieta de protección de caseína hidrolizada se ha usado para disminuir la incidencia y retrasar la aparición de la diabetes en un modelo de rata (130). Otro estudio reciente informó de que también los seres humanos tratados con antibióticos mostraron una mayor y menos equilibrada capacidad anabólica de hidratos de carbono que los individuos no tratados (131). Sin embargo, la mayoría de los estudios clínicos se centran en la caracterización de la composición y la diversidad de los microorganismos del intestino, por lo que sigue siendo incierto si la alteración de la microbiota intestinal inducida por antibióticos en seres humanos con trastornos metabólicos se asocia con mejoría clínica tal y como se ha observado en animales.

## **8.2. Desarrollo de la Microbiota intestinal**

La composición inicial de la microbiota del TGI se determina desde el nacimiento y depende fundamentalmente de dos factores: el tipo de parto y la alimentación (132).



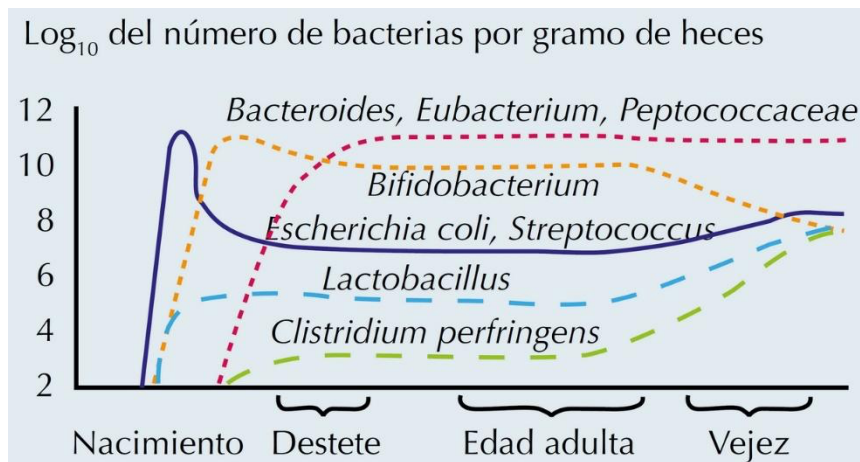
Si el parto se produce de forma natural, el TGI del recién nacido es colonizado por la microbiota vaginal y/o intestinal de la madre y por los microorganismos del ambiente (133,134). Así, la microbiota intestinal inicial está formada por bacterias anaerobias facultativas; coliformes y estreptococos principalmente. Estas bacterias crean un ambiente reductor favorable para el desarrollo de los microorganismos anaerobios, de manera que las bifidobacterias pueden alcanzar al cabo de la primera semana de vida niveles de  $10^8$ - $10^{11}$  Unidades Formadoras de Colonia por gramos (UFC/g) de heces. Cuando el parto se produce por cesárea, el establecimiento de la microbiota normal se retrasa, ya que la colonización microbiana depende exclusivamente del medio externo. En este caso las poblaciones microbianas son diferentes a las que se desarrollan cuando el parto es natural, con un menor desarrollo de microorganismos anaerobios estrictos, sobre todo del grupo de los bacteroides (135).

La alimentación es determinante también en la evolución de esta microbiota, tal y como se ha demostrado en estudios comparativos entre niños con alimentación materna y niños alimentados con leche de fórmula (136). En la microbiota de los primeros dominan las poblaciones de bifidobacterias, mientras que la presencia de clostridios y coliformes es más baja. Por lo contrario, los bebés alimentados con leche de fórmula presentan una microbiota más compleja con presencia de bacteroides, bifidobacterias, clostridios, estreptococos y coliformes en proporciones similares (136,137). Tras el destete, coincidiendo con la introducción de los suplementos alimenticios, se empieza a desarrollar una microbiota mucho más diversa. A partir de los dos años, la microbiota del niño va evolucionando hacia la que será la microbiota del adulto. El número de bacteroides y cocos grampositivos anaerobios aumenta hasta incluso superar a las bifidobacterias, mientras que los coliformes y estreptococos disminuyen (138,139) (Figura 14).

Aunque la mayoría de los autores sostienen que el feto en el útero es estéril y la colonización del recién nacido se produce fundamentalmente por la microbiota del canal del parto, otros estudios parecen apuntar a que la leche materna podría ser también una fuente de microorganismos (140). Estos autores especulan sobre el posible paso de bacterias a través del epitelio intestinal de la madre hacia otras

localizaciones como las glándulas mamarias, desde donde alcanzarían el intestino de los lactantes.

Figura 14. Evolución de la microbiota con la edad



### 8.3. Características y composición de la microbiota intestinal

La microbiota aumenta en complejidad y densidad a medida que avanzamos por el TGI. Así, la cavidad oral de humanos contiene más de 600 especies de bacterias pertenecientes a más de 10 filos (141), el estómago contiene al menos 5 diferentes filos, decenas de familias y cerca de 200 especies de bacterias (142), aunque, debido a la secreción de ácido gástrico, únicamente se desarrollan especies resistentes a pH ácido como estreptococos y lactobacilos (143), incluyendo *Helicobacter pylori*, considerada como carcinógeno del grupo I y agente causal de cáncer gástrico y úlceras gastroduodenales (144). En el intestino delgado los niveles aumentan progresivamente, desde  $10^4$  UFC/g de contenido en la parte superior (duodeno), donde son mayoritarios nuevamente los lactobacilos y los estreptococos (145) hasta los  $10^8$  UFC/g en la región distal del íleon. Las especies más numerosas en esta región son las bifidobacterias, enterobacterias, bacteroides y fusofacterias (146). Los principales factores limitantes para el establecimiento de los microorganismos en el intestino delgado son los movimientos peristálticos y la secreción de jugos pancreáticos y biliares.

El mayor número y diversidad de bacterias en el TGI humano reside en el intestino grueso (147), donde constituyen entre el 35 y el 50% del volumen del contenido sólido (148). Desde un punto de vista fisiológico y evolutivo, es razonable encontrar una

mayor diversidad y cantidad de especies bacterianas en un ambiente prácticamente estable de humedad, temperatura, y rico en nutrientes, tal y como el intestino grueso.

En el colon existe un ambiente muy reductor y desprovisto de oxígeno por lo que la mayoría de las poblaciones son anaerobias estrictas y constituyen lo que se denomina la *microbiota dominante*, caracterizada por concentraciones del orden de  $10^9$ - $10^{12}$  UFC/g. Dentro de esta microbiota, el género *Bacteroides* es uno de los más abundantes, constituyendo el 10% en la proporción de la microbiota. También son dominantes otros microorganismos grampositivos pertenecientes a los filos Firmicutes (60%) (géneros *Eubacterium*, *Peptostreptococcus* y *Ruminococcus*) y Actinobacteria (10%) (género *Bifidobacterium*) (129). En concentraciones inferiores aparecen poblaciones de bacterias anaerobias facultativas como enterobacterias, enterococos, lactobacilos y estreptococos que constituyen la *microbiota subdominante*, con tasas comprendidas entre  $10^5$  y  $10^8$  UFC/g (149). En la Tabla 6 se exponen los microorganismos más abundantes según la localización en el tracto gastrointestinal (150).

Microorganismos predominantes en el tracto gastrointestinal		
Estómago	$10^4$ UFC/g de contenido intestinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Helicobacter pylori (filo proteobacterias)</li> <li>Lactobacillus sp. (filo firmicutes)</li> <li>Streptococcus sp. (filo firmicutes)</li> </ul>
Duodeno	$10^3$ - $10^4$ UFC/g de contenido intestinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bacteroides sp. (filo bacteroidetes)</li> <li>Lactobacillus sp. (filo firmicutes)</li> <li>Streptococcus sp. (filo firmicutes)</li> <li>Sthaphylococcus sp. (filo firmicutes)</li> </ul>
Yeyuno	$10^5$ - $10^7$ UFC/g de contenido intestinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bacteroides sp. (filo bacteroidetes)</li> <li>Lactobacillu sp. (filo firmicutes)</li> <li>Streptococcus sp. (filo firmicutes)</li> <li>Bacillus sp. (filo firmicutes)</li> </ul>
Íleon	$10^7$ - $10^8$ UFC/g de contenido intestinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bacteroides sp. (filo bacteroidetes)</li> <li>Clostridium sp. (filo firmicutes)</li> <li>Esterobacteriaceae (filo proteobacterias)</li> <li>Enterococcus sp. (filo firmicutes)</li> <li>Lactobacillus sp. (filo firmicutes)</li> <li>Veillonella sp. (filo firmicutes)</li> </ul>
Colon	$10^{10}$ - $10^{11}$ UFC/g de contenido intestinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bacteroides sp. (filo bacteroidetes)</li> <li>Bacillus sp. (filo firmicutes)</li> <li>Bifidobacterium sp. (filo actinobacterias)</li> <li>Clostridium sp. (filo firmicutes)</li> <li>Enterococcus sp. (filo firmicutes)</li> <li>Eubacterium sp. (filo firmicutes)</li> <li>Fusobacterium sp. (filo fusobacterias)</li> <li>Peptostreptococcus sp. (filo firmicutes)</li> <li>Ruminococcus sp. (filo firmicutes)</li> <li>Streptococcus sp. (filo firmicutes)</li> </ul>

Tabla 6. Microorganismos predominantes en el trasto gastrointestinal. Manual de Obesidad Morbida. 2ª Ed.

La presencia de determinados núcleos bacterianos (género y especies concretas), así como de sus determinadas funciones metabólicas, permite definir una microbiota saludable en cualquier parte del trasto gastrointestinal. Ejemplos de taxones bacterianos que se han asociado con la salud y un adecuado funcionamiento digestivo son *Bacteroides*, *Bifidobacterium* y *Clostridium* grupo XIVa y IVa (cepas productoras de butirato) (151).

En términos de composición bacteriana, la microbiota de un individuo sano está dominada por los filos Firmicutes y Bacterioidetes (los más abundantes en el colon), seguidos por Actinobacteria y Verrucomicrobia (152). El filo Proteobacteria supone una pequeña parte de las bacterias intestinales en personas sanas; sin embargo, se han encontrado porcentajes mayores en pacientes con diversas patologías gastrointestinales (106). Menos del 0,1% está compuesta por patógenos primarios conocidos, como *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica* y *Vibrio cholerae*.

Para intentar sistematizar el estudio y comprensión de la microbiota intestinal se han descrito 3 «enterotipos» principales en adultos sanos (153). En el primero, predominan las bacterias del género *Bacteroides*, en el segundo las del género *Prevotella* y en el tercero existe una alta proporción del género *Ruminococcus*. Estos enterotipos poseen distintas capacidades metabólicas y parecen ser independientes del sexo o de la edad. Sin embargo, se ha observado que determinados tipos de dietas pueden contribuir a largo plazo, al desarrollo de algún enterotipo concreto (154).

#### **8.4. Funciones de la microbiota intestinal**

La microbiota intestinal aporta indirectamente más de 9 millones de genes al huésped humano (155), proporcionando así características funcionales únicas a nuestro sistema inmune y digestivo.

Actualmente existen suficientes conocimientos para poder afirmar que las funciones del tubo digestivo, nutrición y defensa, dependen no solo de las estructuras propias (barrera mucosa, glándulas secretoras, sistema inmune de las mucosas) sino también de la presencia y actividad de las comunidades microbianas que colonizan el intestino. La microbiota intestinal es un órgano más, perfectamente integrado en la fisiología del huésped. Tubo digestivo y microbiota son interdependientes y hay

evidencias que sugieren que su equilibrio condiciona la homeostasis del individuo dentro de su entorno ambiental.

#### **8.4.1. Función metabólica de la microbiota intestinal**

La microbiota normal afecta a la estructura anatómica y fisiológica del intestino, aumentando la superficie de absorción y promoviendo la renovación de las células de las vellosidades. Además, los microorganismos del TGI aumentan el contenido intraluminal y aceleran el tránsito intestinal. Se ha postulado incluso que los microorganismos interactúan con el hospedador modulando la expresión de los genes relacionados con diversas funciones intestinales (156).

Los microorganismos constituyen un enorme potencial enzimático en el intestino, desempeñando una amplia variedad de funciones metabólicas. Una de las más importantes es la hidrólisis o degradación de los componentes de la dieta (glúcidos, proteínas, lípidos). A través de este proceso se obtiene energía y nutrientes, tanto para los propios microorganismos intestinales como para el hospedador. La fermentación de los carbohidratos resulta en una disminución del pH y la producción de metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Los AGCC más abundantes en el intestino son el acético, el butírico y el propiónico y tienen una gran importancia en la fisiología y nutrición del TGI. La mayor parte de los AGCC producidos en el colon se absorben en la mucosa. El epitelio del colon consume casi por completo el butirato formado, constituyendo la principal fuente de energía para los colonocitos. El butirato se ha relacionado también con la reversión de células neoplásicas, pudiendo participar en la prevención de procesos cancerígenos (157,158). El acetato y el propionato, por su parte, pasan a la circulación portal y se consumen en el hígado o en los tejidos periféricos. La degradación de las proteínas por la microbiota (putrefacción) también genera AGCC, pero se produce al mismo tiempo un serie de compuestos secundarios potencialmente tóxicos como aminas, amonio, fenoles, tioles e índoles (159).

La capacidad metabólica de estos microorganismos incluye también la degradación de determinados compuestos tóxicos, favoreciendo de esta manera la eliminación de sustancias carcinogénicas y/o mutagénicas (160). En otras ocasiones, el

metabolismo bacteriano puede dar lugar a la formación de metabolitos más tóxicos que los compuestos originales (161).

La microbiota en el intestino puede participar igualmente en la síntesis de vitaminas (162) y favorecer la absorción de diversos minerales como calcio, fósforo, magnesio y hierro (163).

En el intestino delgado el ambiente es fundamentalmente oxigénico y la mayoría de las reacciones microbianas son hidrolíticas. Por el contrario, el intestino grueso es anóxico y las reacciones bioquímicas son normalmente reductoras, aunque existen grandes diferencias en función de la sección del colon. Los productos de la fermentación de carbohidratos (AGCC, gases y etanol) están presentes en altas concentraciones en el ciego y colon ascendente, donde la disponibilidad de sustratos es mayor. Por el contrario, los productos de la degradación de proteínas (amonio, ácidos grasos de cadenas ramificada, compuestos fenólicos y sulfurados volátiles) se producen fundamentalmente en el colon descendente (164).

#### **8.4.2. Protección contra los microorganismos externos**

La microbiota intestinal es un elemento importante en la barrera de defensa de la mucosa intestinal. Se ha demostrado que los animales criados en un ambiente estéril son más susceptibles de padecer infecciones. Esto se debe a que en un ecosistema estable constituido por bacterias comensales, éstas compiten con las bacterias patógenas por los nutrientes y los espacios libres. Además, como el epitelio intestinal produce sustancias que inhiben el crecimiento de los microorganismos patógenos y de otras bacterias transitorias del exterior que no forman parte de la microbiota intestinal, la posibilidad de que estos microorganismos patógenos puedan invadir la mucosa se ve limitada (165).

#### **8.4.3. Maduración y función de sistema inmune de la mucosa**

La presencia de microbiota en el intestino tiene un impacto decisivo sobre el desarrollo y maduración del sistema inmune (166). La concepción de que el sistema inmune se desarrolla en respuesta a estímulos infecciosos provocados por microorganismos patógenos no parece sostenerse. Se ha demostrado que la colonización intestinal permanente por bacterias comensales, no necesariamente patógenas, es el factor esencial. Los animales criados en condiciones de asepsia estricta muestran atrofia del sistema inmune de las mucosas (folículos linfoides de

tamaño pequeño, escasez de linfocitos intraepiteliales y de la lámina propia) y también del sistema inmune sistémico (ganglios linfáticos de menos tamaño, bajo nivel de inmunoglobulinas). La colonización bacteriana incrementa rápidamente el número de linfocitos de la mucosa, los centros germinales de los folículos linfoides y ganglios crecen en número y tamaño, aparecen células productoras de inmunoglobulinas en la lámina propia, y los niveles de inmunoglobulinas séricas se normalizan (167). La inducción y regulación del sistema inmune depende de la colonización bacteriana del tracto digestivo.

La mucosa intestinal es un área dotada de estructuras adaptadas a funciones de contacto y comunicación entre el individuo y el medio externo. Esta comunicación incluye el reconocimiento inmunológico de las sustancias del exterior que transitan por el tubo digestivo (166).

Para la perfecta homeostásis, el sistema tiene que distinguir claramente entre patógenos o patógenos potenciales, de un lado, y microorganismos comensales en simbiosis con el anfitrión, de otro lado. En el primer caso, el organismo debe dotarse de elementos de defensa adecuados, mientras que en el segundo caso, el anfitrión tiene que saber tolerar para obtener el beneficio de la simbiosis. Las interacciones entre los microorganismos, el epitelio y los tejidos linfoides intestinales son múltiples, diversas en sus características y continuas de modo que remodelan constantemente los mecanismos locales y sistémicos de la inmunidad adaptándolos al ambiente microbiano (168).

Los enterocitos del epitelio de la mucosa intestinal tienen un papel muy importante en la logística del sistema inmune. Su posición en primera línea y en contacto con la luz intestinal es crucial para el reconocimiento inicial de moléculas foráneas y para la generación de señales que se transmiten a las células inmunocompetentes del tejido subyacente. La activación de los mecanismos de defensa depende en primer lugar del reconocimiento rápido de riesgo a través de receptores innatos o pre-formados que detectan componentes estructurales comunes a bacterias o virus (169). Esto se realiza en el medio extracelular mediante los Toll-like-receptos (TLR) de la membrana, y en el medio intracelular mediante las proteínas tipo NOD del citosol. La activación de estos sensores por invasión bacteriana genera inmediatamente señales que convergen en la migración de factores de transcripción (NF-kappaB y otros) al núcleo celular, donde

activan la expresión de genes responsables de la síntesis de proteínas proinflamatorias, básicamente citoquinas y enzimas inducibles con capacidad para generar mediadores inflamatorios. De este modo las células epiteliales emiten señales con capacidad para atraer y activar leucocitos, aumentar el flujo sanguíneo, incrementar la permeabilidad capilar, etc.

Los enterocitos pueden actuar como células presentadoras de antígenos, sugiriendo que su rol no se limita a la defensa innata, sino que también participan en el escalón inicial de las respuestas de tipo adquirido (expansión de clones linfocitarios específicos y generación de anticuerpos).

La mucosa intestinal cuenta con elementos y estructuras de tejido linfoide inmuno-competente con funciones especializadas de defensa adquirida (166). El llamado “sistema inmune de las mucosas” incluye tres compartimentos diferenciables anatómicamente: *estructuras organizadas* (placas de Peyer y folículos linoides), *lámina propia* y *epitelio superficial*. Las estructuras organizadas están cubiertas por epitelio especializado (células M, de morfología característica), que transporta microorganismos o estructuras antigénicas desde la luz hasta el tejido linfoide subyacente. La inducción de respuestas inmunes de tipo adquirido es un fenómeno que tiene lugar principalmente en las estructuras foliculares de la mucosa intestinal. Los antígenos procesados por células presentadoras de antígenos (por ejemplo, células dendríticas) se presentan a linfocitos T, y se activa la expansión de los clones más afines al antígeno. La expansión clonal de células T da lugar a linfocitos helper (células Th) de distinto fenotipo: Th1, Th2 o T reguladoras (Th3, Tr1 o células CD4-CD25). Las células T reguladoras desempeñan un papel central en inmunotolerancia porque segregan citosinas reguladoras, de carácter antiinflamatorio (IL-10, TGF-beta), en respuesta a antígenos que se reconocen como no patógenos. En condiciones normales, predomina un contexto de inmunotolerancia probablemente mediado por células T reguladoras. Este contexto de inmunotolerancia permite la exposición continua a una carga antigénica abrumadora (microbiota, comida, antígenos ambientales), sin que por ello se desencadenen reacciones inflamatorias que lesionarían al tejido intestinal propio (168,170,171).



## **8.5. Implicaciones de la microbiota intestinal en la Salud**

Dentro del concepto de salud, la disbiosis de la microbiota puede participar en posibles efectos perjudiciales como infecciones intestinales, infecciones extraintestinales y carcinogénesis.

### **8.5.1. Infecciones gastrointestinales**

Infecciones por microorganismos enteropatógenos. Un porcentaje importante de los viajeros que visitan áreas geográficas de alto riesgo infeccioso desarrollan diarreas agudas, denominadas diarrea del viajero. La causa de la mayor parte de estas diarreas es una infección por *E.coli* o diversas especies de *Shigella* y *Salmonella* (170).

Las infecciones por rotavirus son la mayor causa de las diarreas graves durante la infancia y la adolescencia. Desde el punto de vista clínico, la mucosa intestinal se afecta y se modifica la composición de la microbiota intestinal, lo que da lugar a un episodio de diarrea osmótica seguida de un crecimiento excesivo de alguna de las poblaciones bacterianas no dominantes (171).

La diarrea por *Clostridium difficile* asociada al tratamiento con antibióticos. Uno de los desórdenes intestinales más importantes y mejor documentados es la diarrea asociada al tratamiento con antibióticos. La incidencia de esta diarrea se sitúa entre un 5 y un 25% de los casos de la terapia antibiótica, siendo mucho más frecuente cuando se utilizan antimicrobianos de amplio espectro. El tratamiento con antibióticos perturba el balance de la microbiota intestinal normal permitiendo la proliferación de patógenos emergentes como *C. difficile*, causante de la colitis pseudomembranosa que se produce entre el 10 y el 20% de estas diarreas (172).

Las Infecciones por *Helicobacter pylori* es una bacteria espiral gramnegativa que coloniza la mucosa gástrica humana. Este microorganismo se ha asociado con el desarrollo de gastritis crónica, úlceras pépticas y cáncer gástrico. Uno de sus principales factores de patogenicidad es la presencia de la enzima ureasa que hidroliza la urea generando amonio, de forma que el pH local aumenta y se favorece la colonización y la proliferación de microorganismos (173).

### **8.5.2. Enfermedades de base inmunológica**

En las sociedades desarrolladas, la incidencia de alergias y de algunas enfermedades con componentes autoinmunes ha crecido de modo importante durante la segunda

mitad del siglo XX. La hipótesis de la higiene excesiva sugiere que la falta de exposición a agentes bacterianos en las edades tempranas de la vida podría estar en la base de la creciente aparición de disfunciones de sistema inmunológico (174).

En la actualidad numerosos estudios tratan de clarificar y establecer las posibles relaciones de los microorganismos o sus productos con los trastornos gastrointestinales no infecciosos.

Una de las causas más comunes de problemas gastrointestinales es el síndrome del intestino irritable. La enfermedad se caracteriza por una alteración de la actividad motora en todo el intestino, aunque gran parte de los síntomas se sitúan en el colon. La prevalencia de esta patología en países industrializados se ha estimado en torno a un 10% de la población (175). Su etiología es hasta el momento desconocida, pero aparece con frecuencia después de una gastroenteritis o tras el tratamiento con antibióticos (176), por lo que se ha asociado con alteraciones en la microbiota intestinal (177,178).

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es una patología crónica que afecta al colon y/o al intestino delgado. Dentro de este término se engloban dos enfermedades comunes que afectan al 0,1% de la población en las sociedades occidentales y que presentan una incidencia en aumento: la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. La etiología es todavía poco clara, aunque en ambos casos parece demostrado que el sistema inmune reacciona de manera anormal contra algunos componentes de la microbiota intestinal. Se ha comprobado en ratones que la colonización intestinal por bacterias anaerobias, especialmente del género *Bacteroides*, podría promover la producción de citoquinas proinflamatorias que median el desarrollo de una colitis crónica semejante a la humana (179).

La alergia o enfermedad atópica en sus distintas formas de presentación (eczema atópico, rinitis alérgica o asma) es una disfunción crónica de importancia creciente en los países desarrollados. La dermatitis atópica afecta en la actualidad al 15-20% de los niños (180). Estudios poblacionales parecen indicar que una exposición adecuada a los microorganismos en las primeras etapas de la vida protege contra diversos episodios alérgicos (181,182). Esto sería debido al papel crucial que las bacterias intestinales tienen en la maduración del sistema inmune.

### **8.5.3. Cáncer de colon**

En el desarrollo de cáncer de colon parece estar implicados factores de interacción entre la microbiota colónica, la dieta y el epitelio colónico (183). Diversos estudios llevados a cabo con modelos animales han asociado algunos tipos de tumores con ciertas actividades enzimáticas de las bacterias intestinales. Algunas de las enzimas bacterianas implicadas en la generación de mutágenos, carcinógenos y promotores de tumores son: la  $\beta$ -glucosidasa, la nitrorreductasa y la azorreductasa (184). Por el contrario, se ha observado que el butirato producido por ciertas poblaciones intestinales es un inductor de la diferenciación celular y en varios estudios se ha relacionado con la reversión de células neoplásicas en el colon (158). De esta forma el efecto protector de la fibra dietaria en el cáncer de colon se asocia con una mayor producción de butirato (185). A su vez, como en modelos animales, existe amplia evidencia en humanos que sustenta esta asociación entre la microbiota intestinal y el cáncer de colon (186–189).

### **8.5.4. Enfermedades metabólicas**

En las últimas décadas ha habido un aumento de la prevalencia de las enfermedades metabólicas en los países desarrollados. Factores ambientales, como el incremento de la ingesta de energía y la disminución de la actividad física, se han considerado como causas fundamentales. Sin embargo, incluso cuando la ingesta de energía no aumenta y la actividad física no disminuye, la prevalencia sigue creciendo de manera exponencial, por lo que hay que tener en cuenta otros factores ambientales, incluyendo cambios en la microbiota intestinal. Además, aunque se ha producido un cambio drástico en los hábitos de alimentación en el que la fibra dietética se ha sustituido por una dieta rica en grasa, este concepto no puede explicar por qué algunas personas son sensibles y otras son resistentes al desarrollo de estas enfermedades metabólicas.

Uno de los retos es dilucidar el origen molecular de las enfermedades metabólicas, aunque la gran diversidad y las diferencias sociales entre los seres humanos hacen esto difícil. A pesar de los grandes esfuerzos y la identificación de algunas mutaciones en el genoma, ninguna visión global se ha establecido aún. El

descubrimiento de genes candidatos en los estudios de asociación pangenómica ha ayudado a identificar nuevos genes asociados a la sensibilidad/resistencia a la diabetes y fenotipos metabólicos extremos.

Hay, por tanto, una necesidad de encontrar un nuevo modelo que tenga en cuenta la diversidad genética, el impacto factor ambiental, el rápido desarrollo de enfermedades metabólicas, y el comportamiento individual de desarrollar obesidad y/o diabetes.

#### **8.5.4.1. Microbiota y obesidad**

Existe una nueva teoría que muestra a la microbiota como contribuyente en la regulación de la homeostasis energética. Por lo tanto, y junto con las vulnerabilidades ambientales, la microbiota intestinal podría provocar un desequilibrio homeostático.

El primer descubrimiento se relacionó con el hecho de que los ratones con una mutación en el gen de la leptina (ratones metabólicamente obesos) tenían diferente microbiota en comparación con otros ratones sin la mutación (190). En este modelo animal obeso, la proporción de filos dominantes en el intestino, Bacteroidetes y Firmicutes, es modificada, con una reducción significativa en Bacteroidetes y un aumento correspondiente en Firmicutes (191). Ley et al. fueron los primeros en comunicar una microbiota intestinal alterada similar a la encontrada en los ratones obesos (una mayor proporción en Firmicutes y relativamente menor en Bacteroidetes) en 12 sujetos obesos comparados con 2 controles. Más tarde, Armougom et al. (192) confirmaron una reducción en Bacteroidetes acompañado de un aumento en *Lactobacillus* pertenecientes al filo Firmicutes. Turnbaugh et al. (114) y Furet et al. (193) mostraron un patrón diferente, basado en una representación inferior de Bacteroidetes (*Bacteroides* / *Prevotella*) en individuos obesos, pero sin diferencias en Firmicutes. Collado et al. (194) reportaron aumentos en las especies que pertenecen a ambos Firmicutes (*Staphylococcus aureus*) y Bacteroidetes (*Bacteroides* / *Prevotella*) en las mujeres con sobrepeso. Million et al. (195) describieron los cambios en la composición de Firmicutes en base a un aumento en *Lactobacillus reuteri*, junto con una reducción en *L. paracasei* y *L. plantarum*. Por último, otros estudios no han encontrado diferencias entre Firmicutes y Bacteroidetes a nivel filo (192–194).

La abundancia de Firmicutes se asocia con su mayor capacidad de obtener energía de los alimentos y de provocar un bajo grado de inflamación. El aumento en Firmicutes y la disminución en la proporción de Bacteroidetes observado en los ratones obesos podría estar relacionado con la presencia de genes que codifican enzimas que descomponen los polisacáridos que no pueden ser digeridos por el huésped; con el consecuente aumento de la producción de monosacáridos y AGCC y la conversión de estos AGCC a los triglicéridos en el hígado. Estos AGCC son capaces de unirse y activar dos receptores acoplados a proteína G (GPR41 y GPR43) de las células epiteliales intestinales. La activación de estos receptores induce la secreción de péptido YY, que suprime la motilidad intestinal y retrasa el tránsito intestinal. Por este mecanismo de AGCC vinculado a la activación de los receptores acoplados a la proteína G, la microbiota intestinal puede contribuir notablemente a una mayor absorción y depósito de nutrientes, lo que contribuye al desarrollo de trastornos metabólicos (196). Por otra parte, la microbiota intestinal también se ha demostrado que disminuye la producción del factor adiposo inducido por ayuno (FIAF, por *Fasting Induced Adipocyte Factor*); una hormona expresada en la mucosa intestinal que actúa como inhibidor de la lipoproteína lipasa (LPL) secretada por las células intestinales. La inhibición de la actividad de la LPL aumenta el almacenamiento de triglicéridos derivados del hígado (197).

Turnbaugh et al. (198) en un estudio con ratones ob/ob, encontró un contenido calórico reducido en las heces de los ratones obesos, en comparación con los ratones delgados. Otros estudios han sugerido que los sujetos obesos podrían ser capaces de extraer más energía de los nutrientes debido a la transferencia de hidrógeno entre taxones. De hecho, un aumento simultáneo de bacterias productoras de hidrógeno (*Prevotella*) y de bacterias consumidoras de hidrógeno se ha asociado previamente con la obesidad por Zhang et al. (199). Estos hallazgos están de acuerdo con la observación de que los ratones GF alimentados con una dieta rica en grasas ganaron menos peso que los ratones convencionales (200).

El experimento más relevante respecto a la relación de causalidad entre la microbiota y la obesidad fue realizado por Turnbaugh et al. (198). En este estudio demostraron que el trasplante de microbiota de ratones genéticamente obesos a

ratones GF provocaba un aumento de peso muy significativo en comparación con los ratones GF trasplantados con la microbiota de ratones delgados.

Sorprendentemente, el fenotipo con mayor capacidad de obtención energética se transmite simplemente mediante el trasplante de la microbiota intestinal desde obesos a donantes sanos y delgados (194,201). Kalliomäki et al. (228) realizaron un estudio prospectivo en el que siguieron a 49 niños desde el nacimiento hasta los 7 años. Se recogieron sus heces a los 6 y 12 meses de vida y se encontró que los niños que a los 7 años de edad tenían un peso normal, tenían un mayor número de bifidobacterias y un menor número de *Staphylococcus aureus* respecto a los niños que presentaron sobrepeso varios años después. Los autores concluyeron que la alteración en la microbiota precede a la alteración en el peso, una explicación relevante para la prevención de la obesidad. Los autores también propusieron que *S. aureus* puede actuar como un inductor de inflamación de bajo grado, contribuyendo al desarrollo de la obesidad.

Publicaciones recientes determinan que bifidobacterias y *Lactobacillus* pueden tener características diferentes según la especie. Por ejemplo, dentro del género *Lactobacillus*, *L. plantarum*, *L. paracasei* se han asociado con la delgadez, mientras que *L. reuteri* se asocia con la obesidad (195). Las especies de *Lactobacillus* asociadas a delgadez han desarrollado mecanismos de defensa para mejorar la glucólisis y proteger contra el estrés oxidativo, mientras que las especies asociadas a obesidad poseen una capacidad limitada para descomponer la fructosa o la glucosa y podrían reducir los efectos de freno a nivel ileal (202).

#### **8.5.4.2. Microbiota y diabetes mellitus tipo 2 (DM2)**

La diabetes mellitus tipo 2 es la consecuencia de un aumento en la producción de glucosa en el hígado y un déficit en la secreción y acción de la insulina. Otras funciones fisiológicas están alteradas, tales como el sistema nervioso central y autónomo, que conduce a un deterioro de la secreción de hormonas como el glucagón y las incretinas. Sin embargo, una característica común de la obesidad y la DM2 es la presencia de un componente inflamatorio de bajo grado que se describe en tejidos implicados en la regulación del metabolismo, tales como el hígado, tejido adiposo y los músculos (203). Esta inflamación metabólica se caracteriza por un exceso moderado

de la producción de citoquinas, incluyendo la IL-6, IL-1 o TNF- $\alpha$ , que lesiona las señales de insulina celular y contribuye a la resistencia insulínica y la diabetes (204,205).

El aumento de peso sería un factor precipitante de esta inflamación de bajo grado. Cuando la hipertrofia de los adipocitos se produce como una respuesta a la ingesta excesiva de energía, un aumento en la producción de TNF- $\alpha$  en el tejido adiposo se produce de forma consecuente y esto estimula la producción de factores quimiotácticos conllevando un infiltrado en el tejido adiposo de macrófagos proinflamatorios que producen un aumento de la producción de IL-6 y IL-1.

Recientemente, dos estudios han demostrado que la microbiota intestinal podría ser un contribuyente importante para el desarrollo de la DM 2. Ambos estudios demostraron que los sujetos con DM 2 se caracterizan por una reducción en el número de bacterias clostridiales (*Roseburia* y *Faecalibacterium prausnitzii*), productoras de butirato (206,207). Otro estudio encontró cambios en la microbiota en pacientes con diabetes o resistencia a la insulina en comparación con los sujetos sin alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos (208). Además, cambios en la cantidad de bifidobacterias, *Lactobacillus* y *Clostridium*, así como una disminución en la proporción de Firmicutes-Bacteroidetes, se han comunicado recientemente en niños con DM1. Este estudio también mostró que las bacterias que participan en el mantenimiento de la integridad intestinal fueron significativamente inferiores en los pacientes diabéticos que en los controles sanos (209). Cambios similares en la composición de la microbiota intestinal también se han objetivado en pacientes con DM2 (207,210).

Existen varios estudios que relacionan la microbiota intestinal con trastornos metabólicos como la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus (207–209). En los últimos 5 años, un nuevo componente que tiene factores genéticos y ambientales se ha asociado con el desarrollo de la obesidad: la microbiota intestinal. Puede ser alterada por cambios en la dieta, la exposición a antibióticos o por factores genéticos. Asimismo, también puede influir en la expresión de proteínas y enzimas del huésped, como en sus vías de activación metabólicas, directamente o a través de sus productos de fermentación. Se han propuesto varios mecanismos para explicar la influencia de la microbiota en la resistencia a la insulina y la DM 2 como la endotoxemia metabólica, modificaciones en la secreción de la incretinas y en la producción de butirato. Varios estudios analizan los tratamientos con probióticos (211) y prebióticos

(212) para el control de la microbiota intestinal y las enfermedades metabólicas. Los tratamientos con probióticos y prebióticos se postulan como alternativas terapéuticas para el control de la microbiota intestinal por su impacto en el manejo de las enfermedades metabólicas.

Los lipopolisacáridos (LPS) son endotoxinas que se encuentran comúnmente en la membrana externa de las bacterias gramnegativas. Causan endotoxemia metabólica, caracterizada por la liberación de citoquinas proinflamatorias (243). Un aumento en los niveles de LPS se ha observado en los sujetos con alto consumo de grasas (213). Estos hechos sugieren que un cambio en la proporción de bacterias gramnegativas o un cambio en la permeabilidad intestinal son producidos por el aumento de LPS en el suero (214,215), y este aumento, está directamente relacionado con el grado de resistencia a la insulina.

Canis et al. (212,216) informó que la modulación de la microbiota intestinal mediante el uso de prebióticos en ratones obesos actúa favorablemente sobre la barrena intestinal, reduciendo el contenido de LPS y la inflamación sistémica y hepática, inducidas por la dieta rica en grasa. Los LPS son absorbidos por los enterocitos y se transportan en el plasma unidos a los quilomicrones (217). De esta manera, las grasas dietéticas pueden estar asociadas con un incremento de absorción de LPS que a su vez puede estar relacionado con los cambios en la microbiota intestinal, destacando una disminución en *Eubacterium rectale*, *Clostridiumcoccoides*, *Bacteroides* y bifidobacterias (218). Este papel causal de los LPS se demostró mediante la infusión de LPS en ratones con una dieta normal, induciendo de forma secundaria resistencia a la insulina hepática, intolerancia a la glucosa y un aumento en el peso del tejido adiposo (216). Se ha demostrado recientemente que la cascada de señalización inducida por LPS a través de TLR4 deteriora la función de las células  $\beta$  de páncreas a través de la supresión de la secreción de insulina inducida por glucosa y la disminución de la expresión del ARNm del páncreas-duodeno homebos-1 (PDX1) (219).

Los LPS se une al receptor CD14/TLR4 de los macrófagos y produce un aumento en la producción de moléculas proinflamatorias. Cuando se administró la infusión de LPS a ratones con ausencia genética del receptor CD14 / TLR4 no se desarrolló DM2 ni obesidad, lo que muestra el importante papel de los LPS en el mecanismo de CD14 /



TLR4. Por otra parte, ratones Knockout CD14 / TLR4 fueron aún más sensibles a la insulina que los controles de tipo salvaje (220).

#### 8.5.4.3. Microbiota y enfermedad hepática

La enfermedad hepática crónica está asociada con cambios en el intestino. La translocación microbiana definida como la penetración de microorganismos comensales viables o sus productos (también llamados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, por *Pathogen-associated molecular patterns*) a través de la barrera intestinal hasta los ganglios linfáticos mesentéricos es común en pacientes con cirrosis hepática. La tasa de infecciones bacterianas alcanza el 34% por año en los pacientes con cirrosis avanzada (221).

La translocación bacteriana no es sólo habitual en etapas avanzadas de la enfermedad hepática crónica causando infecciones espontáneas, sino que también se produce en fases tempranas. Los pacientes con enfermedad hepática muestran una alteración de la barrera intestinal y altos niveles de productos bacterianos en la circulación sistémica, lo que se correlaciona con la gravedad de la enfermedad hepática.

Tradicionalmente, la investigación se ha centrado en una *disfunción de la barrera intestinal* y la translocación bacteriana como una de las principales interacciones entre el intestino y el hígado.

La microbiota intestinal es una fuente para varias hepatotoxinas y PAMPs, incluyendo LPS. La interrupción de la barrera mucosa facilita la translocación de estas moléculas desde el lumen intestinal al hígado. La translocación bacteriana se ha asociado con infecciones como la peritonitis bacteriana espontánea.

La *inflamación intestinal* es un factor determinante de la mediación de una disfunción de la barrera intestinal en la enfermedad hepática experimental. Se denominan inflamosomas a los complejos multiproteicos citoplasmáticos compuestos por la unión de nucleótidos y proteínas de repetición ricas en leucina (NLRP).

Los inflamosomas son sensores de PAMPs endógenos o exógenos y de patrones moleculares asociados a daño (DAMPs, por *Damage-associated molecular patterns*) que estimulan a citoquinas proinflamatorias tales como pro-IL-1 $\beta$  y pro-IL-18.

Consecuentemente a la translocación microbiana existe una mayor acumulación de productos bacterianos tales como LPS y ADN bacteriano en la vena porta. Estos productos bacterianos estimulan los receptores TLR 4 y TLR9, respectivamente, lo que lleva a una mayor expresión hepática del TNF, que a su vez conduce a la progresión de la enfermedad hepática grasa no alcohólica (NAFLD, por *Non-alcoholic fatty liver disease*) hasta el desarrollo de esteatohepatitis no alcohólica (NASH, por *Non alcoholic steatohepatitis*).

En definitiva, la disbiosis puede afectar a la homeostasis intestinal, causando la inflamación intestinal con translocación microbiana posterior y progresión de la enfermedad hepática, pero también hay evidencias de que un sistema inmune de la mucosa comprometido contribuye a la disbiosis y la translocación bacteriana.

Como se ha comentado previamente, el microbioma puede verse afectado por influencias tales como la dieta, las enfermedades, el uso de medicamentos (incluidos antibióticos) y el sistema inmune del huésped. Estas complejas interacciones no sólo son guiadas por PAMPs bacterianas, sino también a través de metabolitos tales como la colina o los ácidos biliares. La colina es un componente fosfolípido de la membrana celular que juega un papel crucial en el transporte de lípidos en el hígado(222). La microbiota intestinal está implicada en el metabolismo de la colina mediante la producción de enzimas que la catalizan en metilaminas, potencialmente inductoras de inflamación cuando son absorbidas por el hígado (223).

Existen microbiomas específicos asociados al NAFLD y los autores especulan que el microbioma intestinal y quizás la *Escherichia productora endógena de alcohol*, contribuye a la progresión a esteatohepatitis (224).

## **8.6 Métodos de estudio de la microbiota intestinal.**

### **8.6.1 Métodos tradicionales directos**

Tradicionalmente el estudio de la microbiota intestinal se ha abordado fundamentalmente a través del cultivo de microorganismos y de su identificación mediante pruebas fenotípicas: morfológicas, fisiológicas y bioquímicas. El cultivo de la microbiota en medios selectivos y diferenciales es en apariencia el método más

simple y directo, sin embargo, no posee una alta fiabilidad debido a la existencia de bacterias no cultivables. El 99% de las bacterias del contenido fecal son anaerobias estrictas y muchas de ellas extremadamente sensibles al oxígeno, lo que obliga a mantener estrictas y difíciles condiciones para conseguir su cultivo.

### **8.6.2 Métodos tradicionales indirectos**

Consisten básicamente en el estudio del metabolismo bacteriano. El principio se basa en la estimulación de la microbiota intestinal mediante el análisis y la cuantificación de sus metabolitos o ciertas actividades enzimáticas. Se pueden estudiar metabolitos como los ácidos grasos volátiles o productos del metabolismo de los ácidos biliares mediante técnicas cromatográficas, o actividades enzimáticas de origen microbiano como las glicosidas o las reductasas. Estos métodos de estudio presentan el inconveniente de que muchas actividades enzimáticas no son específicas de un microorganismo o de un grupo bacteriano concreto; a lo que hay que añadir la existencia, en ocasiones, de una gran variabilidad o plasticidad metabólica en las especies.

### **8.6.3 Métodos moleculares**

La aplicación de herramientas de genética molecular independientes de cultivo ofrece un gran potencia en la identificación, cuantificación y tipificación de los microorganismos de la microbiota intestinal (221–223) .

Los ácidos nucleicos y las proteínas son macromoléculas comunes a todos los seres vivos que cambian con el tiempo. Por ello, pueden considerarse como cronómetros moleculares o documentos de la historia evolutiva. El ARN ribosómico 16S (ARNr 16S) es la macromolécula más ampliamente utilizada en estudios de filogenia y taxonomía bacteriana.

#### **8.6.3.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

El análisis de la secuencia de fragmentos del DNr 16S de distintos grupos filogenéticos reveló un hecho adicional de gran importancia práctica: la presencia de una o más secuencias características que se denominan *oligonucleótidos firma*. Se trata de secuencias específicas cortas que aparecen en todos o en la mayor parte de

los miembros de un determinado grupo filogenético, y nunca, o sólo raramente, están presentes en otros grupos, incluidos los más próximos. Por ello, los oligonucleótidos firma pueden utilizarse para ubicar a cada bacteria dentro de su propio grupo (225).

El ADNr 16S presenta una serie de características (Figura. 15), en base a las cuales fue considerado por Woese como cronómetro molecular definitivo (226)



Figura 15. Representación del gen ADNr 16S con sus regiones variables (v) y conservadas (c)

La amplificación del ARNr 16Sse realiza en un termociclador (aparato que va a mantener la temperatura necesaria en cada una de las etapas que conforman un ciclo), gracias a la reacción en cadena de la polimerasa. Esta técnica fue descrita por primera vez por Saiki y cols. y posteriormente perfeccionada por Mullis en el año 1987 (227). Existen distintos tipos de PCR:

I. PCR convencional

Se lleva a cabo en un termociclador estándar y se utiliza para la identificación de microorganismos a partir de nuestras clínicas o cultivo. Una vez el producto haya sido amplificado, esta deberá secuenciarse en algunos de los sistemas ya conocidos (228).

II. PCR en tiempo real (PCR-RT)

La PCR-RT ha revolucionado la forma de diagnosticar los patógenos humanos en los laboratorios de microbiología clínica (229). Este método combina la química de la PCR con la detección de la fluorescencia liberada por el producto amplificado en el mismo recipiente en el que ha tenido lugar la reacción. La detección del producto amplificado en la PCR tiene lugar en pocas horas, por lo que es un método de detección mucho más rápido que la PCR convencional.

La PCR-RT tiene una sensibilidad y especificidad equivalente a la PCR convencional combinada con el Southern Blot. Además, como los pasos de amplificación y detección de los ácidos nucleicos son llevados a cabo en el mismo recipiente de reacción, el riesgo de contaminación del posterior análisis es menor

comparado con los métodos basados en PCR convencional. La PCR- RT requiere menos pasos y es una técnica más simple para llevar a cabo que la PCR convencional (230).

Existen varios métodos para la detección de los ácidos nucleicos, pero solo describiremos la técnica que usa SYBR Green.

SYBR Green es un fluoróforo (molécula que emite fluorescencia) que actúa como agente intercalante del ADN que sirve para detectar la acumulación de cualquier producto de ADN de doble cadena. Tras la formación del producto de ADN amplificado, numerosas moléculas de este fluoróforo se unen al producto formado y emiten una intensa señal de fluorescencia que es fácilmente detectado por el sistema (231).

### **8.6.3.2 Metagenómica**

En los últimos años, el rápido desarrollo de las técnicas de secuenciación de segunda generación, conocidos como Next Generation Sequencing (NGS), ha permitido secuenciar un gran número de taxones mediante el gen ADNr 16S de bacterias no cultivables. Estas técnicas evitan el paso previo por procedimientos basados en la clonación y/o cultivo, que antes eran necesarios, con sus sesgos asociados, permitiendo que las comunidades microbianas puedan ser investigadas con una mayor resolución e identificando taxones que son menos abundantes (232).

Recientes trabajos basados en técnicas de alto rendimiento para el estudio de la composición microbiana han usado la tecnología de la pirosecuenciación con el sistema 454 Life Science (233–235) y la secuenciación masiva mediante el sistema Illumina (236,237).

#### **▪ TECNOLOGIA ILLUMINA (secuenciación por síntesis)**

La tecnología de Illumina se encuentra dentro de las plataformas de secuenciación más utilizadas. Entre sus ventajas destacan la alta calidad de los datos obtenidos mediante flujo de trabajo simple e intuitivo, junto con su tiempo de procesamiento rápido y una amplia gama de aplicaciones disponibles.

El proceso de secuenciación se desarrolla en tres etapas:

1.- *Preparación de la librería* por fragmentación aleatoria de la muestra de ADN o ADNc, seguido de la unión de los adaptadores e índices a los extremos de los fragmentos complementarios a plataformas illumina.

2.- *Generación de clusters* mediante un proceso conocido como PCR en puente. Se lleva a cabo sobre una placa de vidrio cubierta de adaptadores complementarios a los adaptadores anclados en las secuencias desnaturalizadas preparadas para secuenciar. Por tanto, cada fragmento de ADN monocatenario se unirá por uno de sus extremos a uno de los oligonucleótidos complementarios de la placa. Tras la acción de la polimerasa, que utiliza estos adaptadores como cebador, se sintetiza la cadena complementaria quedando inmobilizada. Seguidamente, se produce un nuevo ciclo de desnaturalización, provocando que las hebras desnaturalizadas formen puentes gracias a la unión de su extremo libre con otro de los adaptadores inmobilizados en la placa. Este proceso se repite, hasta formar los clusters (una agrupación de secuencias idénticas inmobilizadas sobre una superficie)

3.- *Secuenciación por síntesis* mediante un método de terminación reversible cíclica. Se utilizan los cuatro nucleótidos, con el extremo 3'OH bloqueado (para impedir que la ADN polimerasa añada más de un nucleótido por ciclo), marcados con un fluorocromo diferencial. En el primer paso, la ADN polimerasa incorpora un nucleótido modificado y los nucleótidos no incorporados se eliminan por lavado. A continuación, se realiza una imagen para identificar la identidad del nucleótido incorporado, seguido de un paso de escisión, que elimina el fluorocromo y desbloquea el carbono 3, repitiéndose el proceso.

#### **8.6.4. Estudio de la diversidad de especies bacterianas**

Cuando se realizan estudios de biodiversidad en varios entornos, se han desarrollado parámetros para caracterizarla como una propiedad de las comunidades ecológicas, incluida la microbiota bacteriana en los órganos y sistemas del ser humano. Las especies no están aisladas en un entorno neutro; en cada nicho ecológico se encuentra un número variable de comunidades que interactúan entre ellas y con su entorno. Por ello, para comprender los cambios de la biodiversidad con relación a la estructura

del medio donde se desarrollan, la separación de los componentes alfa y beta puede ser de gran utilidad.

- **Alfa Diversidad**

La diversidad alfa es la riqueza de especies de una comunidad particular a la que consideramos homogénea. Se pueden emplear métodos basados en la cuantificación del número de especies presentes (riqueza específica), o también en función de la estructura de la comunidad, es decir, la distribución proporcional del valor de importancia de cada especie, expresado por ejemplo como abundancia relativa. Los métodos basados en la estructura pueden a su vez clasificarse según se basen en la dominancia (índice de Simpson) o en la equidad de la comunidad, como en el índice de Shannon-Wiener, uno de los más empleados en los estudios de microbioma humano. Este índice se representa normalmente como  $H'$  y se expresa con un número positivo. La fórmula del índice de Shannon es la siguiente:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i$$

$S$  – número de especies (la riqueza de especies)

$P_i$  – proporción de individuos de la especie “ $i$ ”, respecto al total de individuos (es decir la abundancia relativa de la especie “ $i$ ”):

$$p_i = \frac{n_i}{N}$$

$N$  – número total de individuos de todas las especies.

De esta forma, el índice contempla la cantidad de especies presentes en el área de estudio (riqueza de especies), y la cantidad relativa de individuos de cada una de esas especies (abundancia). Adquiere valores entre cero, cuando hay una sola especie, y el logaritmo de  $S$ , cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos.

- **Beta Diversidad**

La diversidad beta es el grado de diferencia en la composición de especies entre distintos hábitats, comunidades o individuos, también definida como el cambio biótico a través de gradientes ambientales. A diferencia de las diversidades alfa, que puede ser medida en función del número de especies, la beta diversidad se basa en proporciones o diferencias. Se mide a través de la abundancia de composición o disimilitud mediante la distancia de Bray-Curtis (entre 0 y 1: 0 es la misma composición entre todas las especies y 1 es que no comparten ninguna especie), y se puede representar a través del análisis de los componentes principales.

El *análisis de componentes principales (ACP)* es una técnica estadística multivariante de síntesis de la información o reducción de la dimensión (número de variables), que permite encontrar los factores subyacentes que mejor explican, tras un conjunto de datos, la variabilidad de éstos.



#### **8.6.5. Microbiota, probióticos y obesidad**

Los probióticos son un preparado o producto que contiene microorganismos definidos, viables y en número suficiente para modificar la microbiota de un ecosistema del hospedador ejerciendo como consecuencia efectos beneficiosos sobre la salud (238).

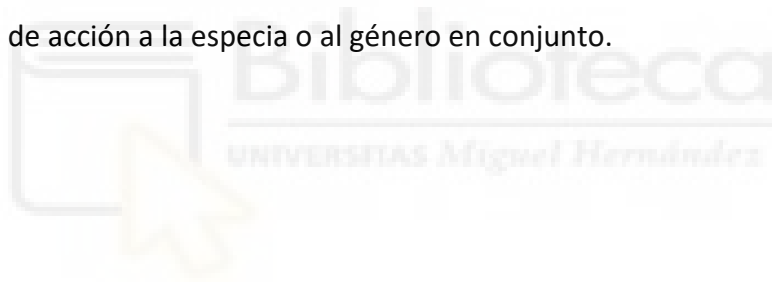
En la actualidad existen en el mercado una importante y variada oferta de productos suplementados con prebióticos y/o probióticos. El principal vehículo de administración de éstos son los productos lácteos, especialmente las leches fermentadas, aunque se pueden encontrar en muchos otros productos como helados, quesos, embutidos, zumos e incluso bizcochos, chocolate o cereales.

Diferentes autores han cuestionado: a) la eficacia de prebióticos, probióticos o su combinación (simbiótico); b) la eficacia de probióticos compuestos de una sola cepa, de una sola especie o de varias especies, y c) la eficacia de microorganismos aislados del mismo o de otro tipo de hospedero.



El trasplante de microbiota fecal (TMF), terapia fecal o microbioterapia fecal consiste en la introducción de heces de un individuo sano en el tracto GI de otro individuo para curar una enfermedad específica, en particular la infección por *Clostridium difficile* (239). Existe también evidencia del potencial del TMF para curar la enfermedad inflamatoria intestinal y otras enfermedades (239,240).

Los análisis realizados con probióticos para controlar el acúmulo de grasa corporal muestran resultados prometedores. Ya existe evidencia sobre el efecto beneficioso del uso de probióticos como estrategia coadyuvante para la prevención y el tratamiento de la obesidad, la resistencia a la insulina, la DM2 y la Enfermedad del hígado graso no alcohólico (241), pero son necesarios más ensayos clínicos para poder demostrar la eficacia de las cepas probióticas específicas para la prevención o el tratamiento del sobrepeso y la obesidad tras una cirugía bariátrica. En este sentido, es importante destacar que los resultados que se obtengan en los ensayos serían específicos de las cepas analizadas, sin que puedan extrapolarse los resultados o los mecanismos de acción a la especie o al género en conjunto.







## ***II. Hipótesis y Objetivos***



## 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

---

### I. HIPÓTESIS

En los pacientes con obesidad mórbida a los que se realiza una gastrectomía vertical laparoscópica, la administración postoperatoria de probióticos se asocia a una pérdida significativa del exceso de peso y a cambios en los parámetros nutricionales, respecto a los que no se les ha administrado probióticos en el postoperatorio.



## 2.2 OBJETIVOS

### 2.2.1 Objetivo primario

- I. Comparar los cambios ponderales y nutricionales entre los pacientes sometidos a GVL y que han tomado probióticos durante 6 meses en el postoperatorio y los pacientes que tras la GVL no han tomado probióticos.
- II. Evaluar la tolerancia a distintos grupos de alimentos a lo largo del primer año del postoperatorio.

### 2.2.2 Objetivos secundarios

- I. Evaluar el efecto de toma de probióticos sobre determinadas variables clínicas.
- II. Evaluar el efecto de toma de probióticos sobre determinadas variables analíticas.
- III. Evaluar si existe una microbiota basal específica asociada a la reducción del IMC.
- IV. Evaluar el efecto de la toma de probióticos sobre los parámetros nutricionales, función renal y la absorción de vitaminas en los pacientes intervenidos por GVL dependiendo de la administración de probióticos.
- V. Comparar los cambios ponderales y los parámetros nutricionales en los dos grupos en función de la microbiota basal.
- VI. Comparar los cambios ponderales y los parámetros nutricionales en función de la administración o no de probióticos





### ***III. MATERIAL Y MÉTODOS***





### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

---

#### **3.1. Diseño del Estudio**

Se estructuró en 2 partes:

1. Para evaluar el efecto de los probióticos sobre los parámetros ponderales y nutricionales en pacientes diagnosticados de OM e intervenidos mediante GVL se realizó un ensayo clínico. En todos los pacientes se realizó una gastrectomía vertical laparoscópica (GVL) y en todos ellos se determinó la microbiota en el preoperatorio y en el postoperatorio.

Al grupo de intervención se le administró probióticos durante 6 meses y al grupo control se le administró un placebo durante el mismo periodo. Se determinó en todos los pacientes la composición de la microbiota antes de la cirugía o mes 0 y en los meses 3, 6 y 9 del postoperatorio.

2. Para evaluar el grado de tolerancia a distintos alimentos a lo largo del primer año del postoperatorio se elaboró un cuestionario basado en el cuestionario validado de Suter (242). Se analizaron diferentes grupos de alimentos durante el primer año postoperatorio en una cohorte prospectiva de pacientes con obesidad mórbida tratados con una GVL.

#### **3.2 Período y ámbito del estudio**

Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron estudiados, tratados y seguidos en el HGUE durante el período de tiempo comprendido entre marzo de 2017 y marzo de 2019.

- Seguimiento clínico y recogida de muestras: Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo. Unidad de Cirugía Bariátrica y Metabólica. Hospital General Universitario de Elche, Elche. Unidad Acreditada por Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad mórbida (S.E.C.O).
- Las técnicas de Microbiología molecular fueron realizadas en el Laboratorio de Genética Molecular del HGUE y el proceso de secuenciación masiva y el análisis

bioinformático se realizaron el Servicio de Secuenciación y Bioinformática de FISABIO-Salud Pública, Valencia.

### **3.3 Población.**

#### **3.3.1 Población a estudio**

Pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de obesidad mórbida pertenecientes al HGUE que cumplieron los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión y que fueron sometidos a GVL durante el periodo previamente referido en los que se pudo obtener las muestras de heces.

#### **3.3.2 Criterios de inclusión y exclusión**

##### **- Criterios de Inclusión:**

- Edad 18 a 65 años.
- Pacientes con diagnóstico de Obesidad Mórbida e indicación de cirugía bariátrica según criterios del comité de obesidad mórbida del HGUE (Tabla 7) basados en la guía clínica de cirugía bariátrica y metabólica de la SECO (243).

Edad: 18- 65 años

Fracaso previo al tratamiento médico

IMC > 40 kg/m<sup>2</sup> o IMC > 35 kg/m<sup>2</sup> con comorbilidades mayores asociadas (HTA, Dislipemia, DM)

Obesidad establecida al menos 5 años.

Ausencia de contraindicación para la cirugía

Ausencia de patología psiquiátrica grave incluyendo el abuso de alcohol o drogas y la bulimia nerviosa

*Tabla 7. Criterios de selección para cirugía bariátrica.*

- Pacientes con indicación de GVL.
- Los pacientes con consentimiento informado de aceptación de participación en el estudio.

- **Criterios de exclusión:**

- Incumplimiento de alguno de los criterios de inclusión.
- No aceptación del consentimiento de inclusión en el estudio.
- Enfermedad de base que pueda resultar perniciosa para el paciente en caso de entrar en el estudio: neoplasia, desnutrición o malabsorción.
- Toma de antibióticos orales en el mes previo a la inclusión en el estudio.
- Enfermedades digestivas que causan malabsorción.
- Toma habitual de probióticos.
- Ausencia de muestra fecal.

### ***3.4 Determinación del tamaño muestral***

Se tomó como referencia el único estudio publicado en la literatura (Woodard et al. J Gastrointest Surg 2009) sobre uso de probióticos tras cirugía bariátrica, en el que, tras tres meses de seguimiento, en el grupo donde se introdujeron los probióticos, la pérdida de peso fue del 47,68% (IC95% 41,70-53,65) frente al grupo control donde la pérdida de peso fue de 38,55% (IC95% 33,24-43,87). Por tanto, si en nuestro estudio esperamos una diferencia de ambos grupos al cabo de tres meses de al menos del 9%, con un error alpha del 0,05 y un riesgo beta del 0,2, y asumiendo la desviación estándar en ambos grupos del 0,14 (según datos de seguimiento de los pacientes intervenidos de cirugía bariátrica durante los últimos 4 años en el HGUE), eran necesarios al menos 38 pacientes en cada grupo. Asumiendo una pérdida de pacientes de al menos un 20%, durante el seguimiento se aumentó la muestra hasta 47 pacientes en cada grupo.

### Grupos y Aleatorización:

La asignación aleatoria de los pacientes que cumplían los criterios de inclusión se realizó mediante una tabla de números aleatorios.

**Grupo 1 GVL-Prob:** pacientes sometidos a GVL que recibieron suplementos probióticos.

**Grupo 2 GVL:** paciente sometidos a GVL a los que se les administró un placebo.

Se procedió a la aleatorización y enmascaramiento doble ciego en la primera consulta informativa donde se reclutaron los pacientes para participar en el estudio.

### Suplementación probióticos.

Los sujetos del grupo de intervención tomaron 4 cápsulas / 24 horas de **PROFAES4<sup>®</sup>** **25MM** repartidos en 2 tomas de 2 cápsulas (12.5 MM por cápsula) comenzando después de la intervención y continuando durante 6 meses post intervención. Y el grupo control tomó 2 cápsulas de placebo con la misma carencia.

La composición de los probióticos se detalla en la siguiente tabla.

INGREDIENTE ACTIVO	CODIGO	mg por capsula	Composición por cápsula
<i>Lactobacillus acidophilus</i> CUL-60	2428 LAB4	Típicamente 44.5mg	Proporción combinada LAB4: 12.5 x 10 <sup>9</sup> (12.5 Billion) CFU
<i>Lactobacillus acidophilus</i> CUL-21	PREMIX		Composición:
<i>Bifidobacterium bifidum</i> CUL-20	2892 LAB4	Típicamente 10mg	CUL-60 5 Billion CUL-21 5 Billion
<i>Bifidobacterium animalis subsp.lactis</i> CUL-34	PREMIX		CUL-20 0.125 Billion CUL-34 2.375 Billion
Fructooligosaccharides	1129	114.5mg	proporción: 100mg Actual FOS

Tabla 8. Composición probióticos.

### **3.5 Clasificación de las variables**

#### **3.5.1. Variables independientes**

##### **- Variables clínicas y ponderales basales en el mes 0**

- Peso preoperatorio en kilogramos.
- Talla en metros.
- Índice de Masa Corporal (IMC) preoperatorio: peso (kilos) / Talla <sup>2</sup> (metros).
- Peso ideal: PI= altura <sup>2</sup> x25.
- Diabetes mellitus tipo II diagnosticada o glicemia basal > 120 mg/dl
- Hipertensión arterial (aumento de presión arterial sistólica >140 mmHg o aumento de la presión arterial diastólica > 90 mmHg).
- Síndrome metabólico diagnosticado, según los criterios de la International diabetes Federation (IDF).
- Presencia de hipertrigliceridemia (Triglicéridos > 150 mg/dl)
- Presencia de hipercolesterolemia (Colesterol > 200 mg/dl)
- Síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS) diagnosticado.

##### **- Variables analíticas y nutricionales basales en el mes 0**

- Recuento leucocitario
- Hematocrito (%)
- Hemoglobina (mg/dl)
- Bioquímica básica: creatinina (mg/dl), calcio (mg/dl), sodio (mmol/L), potasio (mmol/L), colesterol total (mg/dl), HDL colesterol (mg/dl), LDL colesterol (mg/dl), triglicéridos (mg/dl), proteínas totales (g/dl), albúmina (g/dl).
- Vitaminas: Vit D 25-Hidroxi (ng/mL), Vit B12 (pg/mL), fosfato (mg/dl)

##### **- Variables de microbiota basal**

- Unidades Taxonómicas Operatorias (OTUS): a nivel de filo, género y familia.

- Estimación de la biodiversidad (diversidad alfa y diversidad beta):
  - Estimadores de  $\alpha$ -diversidad: índices de diversidad (índices de Shannon, Simpson, InvSimpson, Fischer y OBS) y estimadores de riqueza (índice de Chao1, seChao1, ACE y seACE).
  - Análisis de  $\beta$ -diversidad mediante un análisis multivariante de Componentes Principales (ACP).

### **3.5.2 Variables dependientes**

#### **- Variables clínicas y ponderales basales en los meses 3,6 y 9 del seguimiento postoperatorio.**

- Exceso de peso perdido (%EPP): peso perdido x 100 / peso inicial-peso ideal.
- Diabetes mellitus tipo II diagnosticada o glicemia basal > 120 mg/dl
- Hipertensión arterial (aumento de presión arterial sistólica >140 mmHg o aumento de la presión arterial diastólica > 90 mmHg).
- Síndrome metabólico diagnosticado, según los criterios de la International diabetes Federation (IDF).
- Presencia de hipertrigliceridemia (Triglicéridos > 150 mg/dl)
- Presencia de hipercolesterolemia (Colesterol > 200 mg/dl)
- Síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS) diagnosticado.

#### **- Variables analíticas y nutricionales en los meses 3,6 y 9 del seguimiento postoperatorio.**

- Recuento leucocitario
- Hematocrito (%)
- Hemoglobina (mg/dl)
- Bioquímica básica: creatinina (mg/dl), calcio (mg/dl), sodio (mmol/L), potasio (mmol/L), colesterol total (mg/dl), HDL colesterol (mg/dl), LDL colesterol (mg/dl), triglicéridos (mg/dl), proteínas totales (g/dl), albúmina (g/dl).
- Vitaminas: Vit D 25-Hidroxi (ng/mL), Vit B12 (pg/mL), fosfato (mg/dl)

**- Variables de tolerancia alimentaria**

Grado de tolerancia a 6 grupos de alimentos (Tabla 9). Se establecieron 5 grados de tolerancia (Tabla 10).

<i>Líquidos</i>	<i>Agua fría, agua caliente, infusiones, leche, café, zumos, carbonatadas, caldo y vino</i>
<i>Carnes</i>	Pollo, pavo, ternera, cerdo, conejo, cordero, carne picada
<i>Pescados</i>	pescado blanco, pescado azul, marisco, surimi, atún lata.
<i>Hidratos de carbono y bollería</i>	Arroz, avena, pan tostado, pan blanco, pan de molde, magdalena, picatostes, tarta, fideos, espaguetis, macarrones.
<i>Lácteos</i>	Leche entera, leche desnatada, yogur líquido, yogur, queso fresco, queso curado, queso de untar, queso en lonchas, queso fundido, horchata, chocolate líquido, tableta chocolate.
<i>Verduras y hortalizas</i>	Lechuga, tomate, cebolla, pepino, aceituna, acelgas, lentejas, garbanzos, apio, champiñón, pimiento, calabaza, calabacín, espinacas, judías verdes, judías.

Tabla 9. Grupos de alimentos en 6 categorías.

<i>Puntuación respuestas e interpretación</i>	<b>Tolerancia</b>	<b>Leyenda</b>
<i>0 puntos</i>	Muy mala tolerancia	Intolerancia completa del alimento
<i>1 punto</i>	Mala tolerancia.	Puede presentar 2 o más vómitos por semana del alimento.
<i>2 puntos</i>	Tolerancia parcial	Puede presentar 1 vómito por semana.
<i>3 puntos</i>	Buena tolerancia	No vómito, pero puede presentar dificultad para la ingesta
<i>4 puntos</i>	Muy buena tolerancia	No vómito ni dificultad para ingesta.

Tabla 10. Categorías de tolerancia en la encuesta alimentaria

**- Variables de la microbiota:**

**Composición de la Microbiota**

El análisis de la composición y características de las comunidades bacterianas se llevó a cabo a través de:

- Unidades Taxonómicas Operatorias (OTUS): a nivel de filo, género y familia.



- Estimación de la biodiversidad (diversidad alfa y diversidad beta):
  - Estimadores de  $\alpha$ -diversidad: índices de diversidad (índices de Shannon, Simpson, InvSimpson, Fischer y OBS) y estimadores de riqueza (índice de Chao1, seChao1, ACE y seACE).
  - Análisis de  $\beta$ -diversidad mediante un análisis multivariante de Componentes Principales (ACP)

### **3.6. Recogida y procesamiento de muestras fecales y recogida encuesta alimentaria**

Se diseñó un formulario para la recogida de las variables estudiadas. Se realizó un proceso de codificación de las muestras con 3 dígitos para mantener anonimato:

- 3 dígitos: orden numérico de estudio del paciente.
- Última letra más número: indica el mes de recogida de la muestra.

La muestra de heces se obtuvo en el quirófano el mismo día de la intervención (basal) mediante recogida con torunda, y posteriormente durante la revisión programada en consulta de la Unidad de Cirugía Bariátrica del HGUE a los 3 meses, a los 6 y a los 9 meses de la cirugía. Se congeló en la primera hora tras su obtención a  $-80^{\circ}\text{C}$ , hasta su traslado al centro de diagnóstico molecular.

Las muestras de heces se enviaron al Laboratorio de Microbiología del HGUE donde se conservaron en *RNA later Stabilization Solution* a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la extracción de ácidos nucleicos, que se realizó mediante *QIAmp Dna Stool Mini* siguiendo las instrucciones del fabricante. El extraído se conservó a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la preparación de las librerías de amplicones para posterior secuenciación. El resto de la muestra se conservó a  $-80^{\circ}\text{C}$  almacenado en el Biobanco del HGUE.

#### **3.6.1 Construcción de librerías para secuenciar con Illumina MiSeq**

Para la construcción de librerías se amplificó un fragmento de 459pb correspondiente a las regiones variables V3 y V4 del 16S. Los cebadores utilizados

fueron los descritos para metagenomas humanos (Klindworth A., *et al.* 2013) a los cuales se les añadió la secuencia de los adaptadores de Illumina en los extremos.

Tal y como se describe en [https://support.illumina.com/downloads/16s\\_metagenomic\\_sequencing\\_library\\_preparation.html](https://support.illumina.com/downloads/16s_metagenomic_sequencing_library_preparation.html).

La amplificación se realizó mediante una PCR de número de ciclos limitado a 25 para evitar la introducción de sesgos. Las librerías se indexaron mediante una PCR que reconoce la secuencia de los adaptadores utilizando para ello el kit de indexado de Illumina (Nextera XT Index Kit (96 Índices, 384 Samples), FC-121-1012). Este kit además de los índices añade los adaptadores P5 y P7 necesarios para la unión de las librerías a la placa de secuenciación. Tras el indexado, las librerías se normalizaron y se agruparon en una única muestra. El tamaño de la librería se determinó mediante análisis en Bioanalyzer 2100 de Agilent con el kit de alta sensibilidad (Agilent 5067-4626) así como mediante PCR convencional utilizando cebadores complementarios a los adaptadores. Finalmente, la muestra se cargó en el cartucho de secuenciación MiSeq Reagent Kit v3 de 300 ciclos (MS-102-3003). La muestra se secuenció mediante la opción de lecturas emparejadas de 2x300pb. Al ser el tamaño del amplicón de 16S inferior a 600pb, tras la secuenciación se reconstruyeron bioinformáticamente fragmentos únicos de 600pb mediante superposición de las lecturas emparejadas. De esta forma, al disponer de un tamaño de amplicón mayor, se aumentó la precisión de la asignación taxonómica posterior.

### **3.6.2 Análisis bioinformático y asignación taxonómica de secuencias del gen 16S ARNr.**

Las secuencias totales obtenidas fueron analizadas mediante protocolos de análisis desarrollados por el Servicio de Secuenciación y Bioinformática de FISABIO-Salud Pública. Se llevó a cabo un control de calidad mediante el programa "prinseq" (Schmieder R and Edwards R: Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. *Bioinformatics* 2011, 27:863-864). Las lecturas R1 y R2 procedente de la secuenciación Illumina MiSeq 2x300 se unieron mediante el programa "fastq-join" del

paquete "ea-utils" (Erik Aronesty (2011). ea-utils: "Command-line tools for processing biological sequencing data"; <http://code.google.com/p/ea-utils>). Las secuencias chiméricas se eliminaron mediante el programa "usearch" (Edgar, RC (2010) Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST, *Bioinformatics* 26(19), 2460-2461. doi: 10.1093/bioinformatics/btq461). Finalmente, las secuencias resultantes se utilizaron para su clasificación taxonómica empleando la base de datos de "Ribosomal database project" (RDP: <http://rdp.cme.msu.edu/>).

### **3.6.3 Estimación de la diversidad de la microbiota y análisis estadístico**

Se realizó el cálculo de los estimadores de  $\alpha$ -diversidad: índices de diversidad (índices de Shannon, Simpson, InvSimpson, Fischer y OBS) y estimadores de riqueza (índice de Chao1, seChao1, ACE y seACE). Los estimadores de  $\alpha$ -diversidad obtenidos, así como la proporción de filos y géneros bacterianos presentes en las muestras, se compararon estadísticamente entre los grupos de estudio mediante el test U-Mann Whitney. Se realizó el análisis de  $\beta$ -diversidad mediante un análisis multivariante de Componentes Principales bidimensional entre grupos y un test PERMANOVA para valorar la asociación de las variables clínicas y analíticas con la composición de la microbiota.

Para el análisis descriptivo y estadístico, así como por la representación de los datos se empleó el software estadístico R versión 3.1 (<http://R-project.org>).

### **3.6.4. Encuesta sobre el grado de tolerancia alimentaria**

Se realizó una encuesta de tolerancia diseñada en los meses 1,3,6, 9 y 12 del seguimiento basada en el cuestionario de Suter modificado y validado en nuestro país (242). El detalle de los alimentos sobre los que se recabó la información aparece en la Tabla 9. Para analizar la tolerancia a distintos alimentos a lo largo del primer año del postoperatorio se obtuvo una puntuación ordinal de tolerancia basada en la mediana (Me) y el rango intercuartil. Además, se utilizó un *modelo ordinal acumulativo* (CLOM) que analiza la variabilidad temporal en la tolerancia oral a cada tipo de alimento. Se le

asignó una probabilidad  $p$  para cada tipo de alimento. Para analizar la variabilidad temporal se utilizó el tiempo como una variable independiente en una ecuación con una potencia de hasta 1. Con este modelo, calculamos la probabilidad de una tolerancia buena o muy buena de los resultados obtenidos durante el periodo analizado. De esta forma, se calculó el riesgo de no tener una tolerancia satisfactoria a los alimentos. Los valores de probabilidad “ $p$ ” en torno al 80% fueron considerados adecuados para identificar una buena o muy buena tolerancia oral. Basado en estos criterios, el modelo predeciría una tolerancia oral buena en 8 de 10 pacientes (80%). Los alimentos con valores de Me de 3 puntos o más y los valores de CLOM de aproximadamente 80% o más se consideraron bien tolerados.

### **3.7. Aspectos Éticos**

El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital General Universitario de Elche (HGUE) con fecha 3 de diciembre de 2015 (PI 17/2025). Los pacientes firmaron la autorización para la participación en el estudio tras haber recibido la información verbal y escrita de las características del trabajo de investigación, así como la autorización para la cesión de las muestras de heces al Biobanco del HGUE, en colaboración con la Red Nacional de Biobancos. Esta investigación fue realizada siguiendo las directrices internacionales en materia de investigación biomédica con seres humanos (Declaración de Helsinki, Edimburgo 2000) así como la legislación española en materia de investigación:

- Convenio para la protección de los Derechos Humanos y la Dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la biología y la medicina. Convenio relativo a los Derechos Humanos y la biomedicina (aprobado por el consejo de ministros el 19 de noviembre de 1996. Firmado el día 4 de abril de 1997, publicado en el BOE de 20/10/99 y corregido según el BOE de 11/11/99).

- Ley orgánica 15/99 de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal.

- Ley 41/2002 de 14 de noviembre básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

En la base de datos del proyecto de investigación remitida a los investigadores los pacientes fueron individualizados mediante códigos disociados, no identificables, sin sentido para ningún otro sistema de información y que no permitiera la identificación de pacientes individuales ni su cruce con otras bases de datos. Dado que la base de datos del proyecto no contenía ningún dato que permitiera la identificación de los pacientes, no se declaró a la Agencia de Protección de Datos. En todo caso, el equipo investigador no dispuso, ni a partir de esta base de datos ni de otras fuentes, información identificativa de los pacientes.







## ***IV.Resultados***





#### 4.1. Características demográficas de la población de estudio

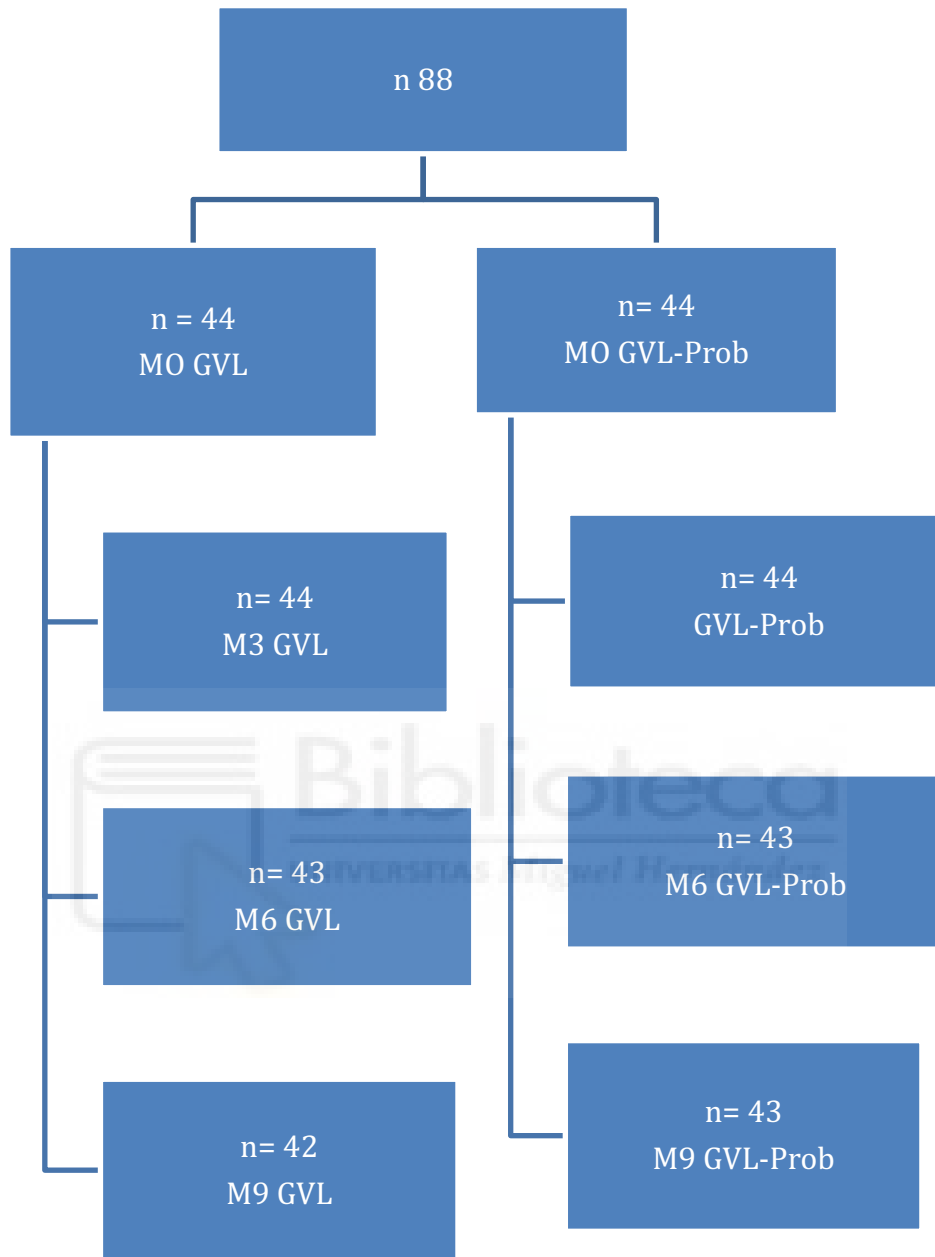
El análisis se realizó con intención de tratar sobre el total de 88 pacientes. Sesenta y siete pacientes fueron mujeres y 21 varones. Las medias y las desviaciones estándar o el valor absoluto y porcentaje de las diferentes variables antropométricas basales tanto para el total de los pacientes como para cada grupo del estudio se recogen en la Tabla 11. Los dos grupos no presentaron diferencias estadísticamente significativas en sus características basales.

En la Figura 16 se muestra el diagrama de flujo de la intervención realizada en todos los pacientes. Del total de los 88 pacientes que comenzaron el estudio, tras la aleatorización 44 sujetos conformaron el grupo GVL-Prob (recibieron probióticos orales durante 6 meses) y 44 el grupo GVL (recibieron un placebo durante mismo periodo). Un@ paciente no completó el seguimiento en el grupo de los probióticos (Grupo GVL-Prob) y 2 pacientes no completaron el seguimiento en el grupo del placebo (Grupo GVL).



	Global	GVL-Prob Media (DT) o n	GVL Media (DT) o n	p
N ( <i>Hombre/mujer</i> )	88 (21/67)	44 (10/34)	44 (11/33)	0,80
	$\bar{x}$ $\sigma$	$\bar{x}$ $\sigma$	$\bar{x}$ $\sigma$	
Edad (años)	45,4 $\pm$ 9,2	46,2 $\pm$ 9,7	44,6 $\pm$ 8,8	0,42
Talla (cm)	163 $\pm$ 0,08	164 $\pm$ 0,09	162 $\pm$ 0,78	0,33
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	44,3 $\pm$ 4,7	43,43 $\pm$ 4,37	45,35 $\pm$ 4,96	0,58
Peso (kg)	118,8 $\pm$ 16,8	118,17 $\pm$ 17,3	119,58 $\pm$ 16,62	0,69
Cintura (cm)	124 $\pm$ 12	124 $\pm$ 13	123 $\pm$ 11	0,72

Tabla 11. Características demográficas y antropométricas. GVL-Prob; pacientes que tomaron probióticos. GLV: pacientes que tomaron placebo.



**Figura 16.** Diagrama de flujo del ensayo clínico.

Veintiocho pacientes presentaron diabetes mellitus al inicio del estudio. Treinta y cinco de los pacientes presentaron SAOS diagnosticado al inicio del estudio. Los valores de las variables clínicas de la población basal se muestran en la Tabla 12, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre grupos del estudio.

	Global	Grupo GVL-Prob n	Grupo GVL n	p
Diabetes mellitus	28 (31,8%)	15	13	0,59
HTA	37 (43%)	17	20	0,57
Dislipemia	15 (17,9%)	9	8	0,70
SAOS	35 (40,7%)	17	17	0,93
Síndrome metabólico	14 (15,9%)	5	9	0,24

Tabla 12. Variables clínicas basales preoperatorias

Los valores de las variables analíticas de la población basal de ambos grupos se muestran en la Tabla 13. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en sus valores analíticos basales.

	Global	Grupo GVL-Prob Media (DT)	Grupo GVL Media (DT)	p- valor
Hematocrito (%)	41 ± 6,04	42,6 ± 4,8	39,8 ± 6,7	0,47
Glucosa basal (mg/dl)	100 ± 29,7	104,2 ± 17,2	111,2 ± 38,18	0,27
HbA1c (%)	5,45 ± 0,9	5,9 ± 0,8	5,7 ± 0,95	0,57
HDL-Colesterol (mg/dl)	45 ± 9,4	46,3 ± 9,9	45,3 ± 9,03	0,63
Triglicéridos (mg/dl)	123 ± 90	134,07 ± 63,57	154,02 ± 108,5	0,3
Creatinina (mg/dl)	0,7 ± 0,11	0,71 ± 0,10	0,71 ± 0,12	0,97
Albumina (g/dl)	4,1 ± 0,29	4,08 ± 0,31	4,12 ± 0,28	0,70
Vitamina B12 (pg/mL)	372,5 ± 157,3	430,97 ± 140,48	430,10 ± 172,9	0,98
Ac. Fólico (ng/mL)	5 ± 3,9	5,45 ± 3,2	6,19 ± 4,4	0,43
Zinc (µg/dL)	77 ± 13,8	79,36 ± 12,8	77,7 ± 14,8	0,62
Hierro (µg/dL)	65 ± 31,7	65,38 ± 30,43	74,86 ± 32,59	0,21
Vitamina D (ng/dL)	18,6 ± 7,9	19,45 ± 7,28	19,42 ± 8,63	0,98
Calcio (mg/dL)	9,4 ± 0,4	9,46 ± 0,37	9,47 ± 0,43	0,93

Tabla 13. Variables analíticas basales preoperatorias

## 4.2. Cambios ponderales

En las Tablas 14, 15 y 16 se muestran los cambios ponderales en los meses 3, 6 y 9 del seguimiento. No se encontró una asociación significativa entre la pérdida de peso o la disminución del perímetro abdominal con la toma de probióticos tras una GVL.

	Grupo GVL-prob		Grupo GVL		p
	Basal (n44)	M3 (n42)	Basal (n44)	M3 (n43)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	43,4 ± 4,3	-7,9 ± 3,09	45,3 ± 4,9	-8,82 ± 2,8	0,186
EPP (%)		44,2 ± 16,4		43,9 ± 12,1	0,914
Cintura (cm)	124,2 ± 13,0	-10,1 ± 8,6	123,9 ± 11,0	-8,2 ± 8,2	0,778

Tabla 14. Cambios ponderales en el mes 3. IMC: índice de masa corporal. EPP: exceso de peso perdido ((peso inicial- peso actual/peso inicial- peso ideal)x100)); P: exceso de peso perdido ( (peso inicial- peso actual/peso inicial- peso ideal)x100)).

	Grupo GVL-prob		Grupo GVL		p
	Basal (n44)	M6 (n42)	Basal (n44)	M6 (n43)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	43,4 ± 4,3	-11,9 ± 3,2	45,3 ± 4,9	-12,3 ± 3,6	0,561
EPP (%)		66,3 ± 18,3		62,7 ± 13,6	0,327
Cintura (cm)	124,2 ± 13,0	-19,0 ± 10,8	123,9 ± 11,0	-13,2 ± 8,9	0,068

Tabla 15. Cambios ponderales en el mes 6.

	Grupo GVL-prob		Grupo GVL		p
	Basal (n44)	M9 (n42)	Basal (n44)	M9 (n43)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	43,4 ± 4,3	-13,8 ± 3,7	45,3 ± 4,9	-14,5 ± 4,1	0,364
EPP (%)		76,3 ± 21,0		72,6 ± 17,9	0,393
Cintura (cm)	124,2 ± 13,0	-22,8 ± 11,5	123,9 ± 11,0	-16,9 ± 9,1	0,68

Tabla 16. Cambios ponderales en el mes 9

## 4.3. Cambios variables clínicas (comorbilidades)

Se muestra en la Tabla 17 la evolución de la prevalencia de las variables clínicas que corresponden a las enfermedades comórbidas asociadas a la obesidad mórbida analizadas en nuestro trabajo.

	mes 0		Mes 3		P	Mes 6		p	Mes 9		p
	GVL-Prob	GVL	GVL-Prob	GVL		GVL-Prob	GVL		GVL-Prob	GVL	
<b>Diabetes mellitus</b>	15 (34,9%)	13 (29,5%)	3 (7%)	3 (6,8%)	1	2 (4,8%)	2(4,2%)	1	1 (2,45)	2 (4,7%)	1
<b>Hipertensión arterial</b>	17 (39,5%)	20 (45,5%)	9 (22,5%)	15(34,1%)	0,24	6 (15,4%)	11 (25%)	0,23	3 (8,1%)	6(13,6%)	0,48
<b>Dislipemia</b>	9 (21,4%)	8 (18,2%)	5 (12,2%)	6 (13,6%)	1	1 (2,6%)	4 (9,3% <sup>9</sup> )	0,36	1 (2,7%)	3 (7,1%)	0,61
<b>Sd.Metabólico</b>	5 (11,4%)	9 (20,5%)	2 (4,5%)	3 (6,8%)	1	2 (4,5%)	1 (2,3%)	1	0	2 (4,5%)	0,49
<b>SAOS</b>	17(39,5%)	17 (38,6%)	6 (15,4%)	3 (6,8%)	0,29	2 (5,3%)	1 (2,3%)	0,59	3 (7,9%)	0	0,10

**Tabla 17** Distribución de las variables clínicas por meses.

### **Diabetes mellitus**

La diabetes mellitus presentó una prevalencia inicial similar en ambos grupos. Todos los pacientes del estudio presentaron una mejoría de su DM, en los meses 3, 6 y 9 del seguimiento sin que se haya encontrado una asociación significativa con la toma de probióticos ( $p > 0,05$ ).

### **Hipertensión arterial**

En 11 de los pacientes del grupo control (25%) mantenían la hipertensión arterial, mientras que solo 6 pacientes la mantuvieron en el grupo de probióticos (15,4%). Esta diferencia desapareció en los tres meses posteriores cuando ya no se tomaban los probióticos. No se pudo demostrar una correlación estadísticamente significativa en ninguno de los casos.

### **Dislipemia.**

No hubo una asociación significativa entre la mejoría de las dislipemia y la toma de probióticos, aunque si una tendencia a la mejoría en el grupo de intervención,

donde se consiguió descender la prevalencia hasta el 2,6% y el 2,7% en los meses 6 y 9 frente al 9,3% y 7,1% en el grupo de placebo.

### Síndrome metabólico

Según la definición de síndrome metabólico del consenso 2009, observamos que una mejoría, que no alcanzó la significación estadística, en ambos grupos. En 2 pacientes de los 5 iniciales con síndrome metabólico en el grupo de probióticos se mantuvo el diagnóstico. Sin embargo, en el grupo placebo tan solo 1 paciente de los 9 que fueron diagnosticados al comienzo del ensayo lo mantuvieron al finalizar en el mes 6.

### Síndrome de la apnea obstructiva crónica

En ambos grupos se detectaron al inicio 17 pacientes con SAOS. La mejoría en ambos grupos fue muy similar. No se encontró una asociación significativa con la toma de probióticos.

#### 4.4. Cambios variables analíticas de comorbilidad

	GVL-prob				GVL			
	Basal Media (DS) (n=44)	Mes 3 (n=44)	Mes 6 (n=44)	Mes 9 (n=43)	Basal Media (DS) (n=44)	Mes 3 (n=44)	Mes 6 (n=43)	Mes 9 (n=42)
Glucosa (mg/dl)	104,2±17,2	100,7±27,5	92,2±12,1	88,4±11,2	111,2±38,1	97,9±15,1	90,8±10,7	90,4±12,05
HbA1C (%)	5,9±0,8	5,2±0,3	5,3±0,5	5,4±0,4	5,7±0,9	5,4±0,7	5,4±0,7	5±0,3
Triglicéridos (mg/dl)	134,07±63,5	120,7±46,6	106,02±46,6	96,3±36,2	154,02±108,5	131,0±59,3	117,8±67,5	110,7±69,5
HDL- Colesterol (mg/dl)	46,3±9,9	40,5±10,1	45,9±12,4	53,6±12,5	45,3±9,03	40,6±10,8	46,02±9,8	50,8±12,4
Creatinina (mg/dl)	0,71±0,1	0,70±0,35	0,66±0,1	0,67±0,04	0,71±0,12	0,71±0,24	0,76±0,27	0,71±0,13

Tabla 18 Resultados variables analíticas.

Los cambios en las variables analíticas de los pacientes que participaron en el ensayo clínico se detallan en la Tabla 18.

El descenso de las cifras de glucemia basal en ambos grupos fue similar, con medias iniciales similares de 104,2 mg/dl y 111 mg/dl en el grupo de probióticos y el

grupo placebo, respectivamente. En el mes 9 los valores medios de glucemia son de 88,4 mg/dl y 90,4 mg/dl, respectivamente sin diferencias estadísticamente significativas.

Los valores de la hemoglobina glicosilada (HbA1c) presentaron una tendencia a la mejoría en ambos grupos. No se hallaron diferencias entre ambos grupos. Además, en todo el periodo del estudio los valores de HbA1c fueron normales (<6%).

Los valores medio de triglicéridos (mg/dl) presentaron un descenso a lo largo del seguimiento en los dos grupos, incluso después de finalizar la toma de probióticos (6º mes). A partir del mes 3 ambos grupos presentaron niveles no patológicos (<150 mg/dl). En el grupo que tomó los probióticos, el descenso de los niveles medios fue mayor, pero sin diferencias estadísticamente significativas.

Ambos grupos presentaron valores normales de HDL-Colesterol tanto prequirúrgicos como durante el seguimiento tras la GVL.

Sí que observamos que tras finalizar el tratamiento con probióticos al sexto mes, los niveles de HDL colesterol se elevaron en ambos grupos, algo mayor en el grupo GVL-Prob (53,6 mg/dl), sin que esta diferencia fuera significativa.

Los niveles de creatinina como indicador de una correcta función renal se mantuvieron estables durante todo el periodo analizado. También sin diferencias significativas entre ambos grupos.

#### **4.5. Cambios variables nutricionales y vitaminas**

A continuación, se exponen los resultados de las diferentes variables nutricionales, así como el perfil vitamínico durante el estudio para ambos grupos en la Tabla 19.

Variables resultado	GVL- Prob				GVL			
	Basal Media (DS) (n=44)	Mes 3 (n=44)	Mes 6 (n=44)	Mes 9 (n=43)	Basal Media (DS) (n=44)	Mes 3 (n=44)	Mes 6 (n=43)	Mes 9 (n=42)
Albumina (mg/dl)	4,08±0,31	4,06±0,28	4,04±0,27	4,26±0,15	4,12±0,28	4,15±0,33	4,12±0,57	4±0,14
Hematocrito (%)	42,6±4,8	41,3±5,3	39,8±3,8	40,4±4,3	39,8±6,7	39,9±4,15	39,11±4,4	39,4±3,8
Vitamina B12 (pg/ml)	430,9±140,4	410,8±144,9	351,3±110	308,1±70,8	430,1±172,9	424,1±154,9	378±185,5	344,2±123,6
Ac. Fólico (ng/ml)	5,45±3,2	3,84±1,4	4,67±4	8,17±5,9	6,19±4,4	6,83±4,7	7,56±6,1	5,2±3,9
Zinc (µg/dL)	79,3±14,8	81,5±11	82,2±12,1	80,06±5,8	77,7±14,8	84,7±18,2	82,46±14,12	84,03±6,4
Hierro (µg/dL)	65,3±30,4	75,3±34,2	87,6±31,8	76,2±20,4	74,8±32,5	75,1±37,9	83,9±33,5	57,7±31,08
Vitamina D (ng/dl)	19,45±7,2	34,15±23,3	32,03±15,53	33,06±23,74	19,42±8,6	31,2±12,06	31,2±9,54	30,8±12,3
Calcio (mg/dl)	9,4±0,3	9,5±0,4	9,6±0,2	9,7±0,2	9,4±0,4	9,5±0,4	9,6±0,2	9,7±0,2

**Tabla 19.** Resultados variables nutricionales y perfil vitamínico

Dentro de las variables nutricionales, los valores de albúmina en sangre se mantuvieron en todo momento por encima del valor mínimo (3,5 g/dl). Se produjo un descenso paulatino de en los valores medios de la albúmina durante el seguimiento en el grupo de probióticos mientras que se mantuvo más constante en el grupo del placebo. No obstante, no se observó una asociación estadísticamente significativa entre la toma de probióticos y la variación de la albúmina en sangre.

Los valores del hematocrito observados en nuestro estudio presentaron un descenso en el grupo al que se le administraron los probióticos, pasando de un hematocrito inicial de 42,6% al 40,4% al finalizar. El grupo placebo, mantuvo unos niveles similares a lo largo de todo el estudio, en torno al 39%. Estas diferencias no alcanzaron la significación estadística.

Todos los sujetos del estudio presentaron a lo largo del seguimiento un descenso de los niveles de vitamina B12 en sangre. Los valores basales estaban en 430 pg/ml en ambos grupos, alcanzando valores de 351 pg/mL y 378 pg/mL, en el grupo de probióticos y grupo placebo respectivamente, sin alcanzar estas diferencias la significación estadística.

Los niveles de ácido fólico en sangre presentaron un descenso de sus niveles en el mes 6, y un aumento posterior de sus niveles en el mes 9. En el grupo placebo solo



se observó un aumento progresivo de sus niveles. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Se observó un aumento progresivo de los valores del Zinc en sangre en ambos grupos sin alcanzar la significación estadística.

Los resultados observados en los niveles de hierro fueron muy similares en ambos grupos, presentando un aumento de sus niveles séricos sin presentar diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Ambos grupos iniciaron el estudio con niveles medios muy bajos de Vitamina D; déficit muy habitual en los pacientes con obesidad mórbida. En el mes 3 todos los pacientes habían recuperado los niveles normales ( $>20$  ng/mL) aunque con una discreta mejoría en el grupo de probióticos, sin que esta diferencia alcanzase a ser significativa.

Finalmente, los niveles de calcio no mostraron diferencias entre las dos grupos del estudio, manteniendo niveles similares.

#### **4.6. Comparación de cambios clínicos, analíticos y nutricionales entre grupos**

En este apartado comparamos los resultados de pérdida de índice de masa corporal (IMC), Exceso de peso perdido (EPP), perímetro abdominal (PC), y las variables analíticas registradas en los meses 3, 6 y 9 con respecto al mes 0. La diferencia entre los valores del mes 3 y los valores del mes 0 nos dan su diferencia que corresponde con la variable M3. Las diferencias entre el mes 6 y el mes 0, darán las diferencias de la variable M6. Y las diferencias entre el mes 9 y el mes 0 darán las diferencias de la variable M9.

Los cambios ponderales están detallados en la Tabla 20. El IMC, el EPP y el PC se redujeron en los periodos analizados M3, M6 y M9 en ambos grupos sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos GVL-Prob y GVL.

	GVL-Prob				GVL				P*		
	Diferencia con los valores basales				Diferencia con los valores basales						
	Basal Media (n=44)	M3 (n= 44)	M6 (n=42)	M9 (n=43)	Basal Media (n=44)	M3 (n=44)	M6 (n=43)	M9 (n=42)	M3	M6	M9
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	43,4 ±4,3	-7,9 ±3,09	-11,9± 3,2	-13,8±3,7	45,3±4,9	-8,82±2,8	-12,3±3,6	-14,5±4,1	0,19	0,56	0,36
<b>EPP (%)</b>		44,2±16,4	66,3±18,3	76,3±21,0		43,9±12,1	62,7±13,6	72,6±17,9	0,91	0,32	0,39
<b>PC (cm)</b>	124,2±13,0	-10,1±8,6	-19,0±10,8	-22,8±11,5	123,9±11	-8,2±8,2	-13,2±8,9	-16,9±9,1	0,78	0,07	0,68

**Tabla 20.** Resultados de los cambios de las variables ponderales con respecto a sus valores basales

\*p-valor (t-student para variables que siguen la normalidad y U de Mann-Whitney para la no normalidad). IMC; índice de masa corporal. EPP; exceso de peso perdido. PC; perímetro de la cintura. M3: mes3-mes0. M6: mes 6-mes 0. M9: mes 9-mes0.

En la Tabla 21 se muestran los cambios de los valores de las variables analíticas y nutricionales. Los valores analíticos de glucosa y HbA1c presentaron una mejoría en ambos grupos, sin encontrar una asociación estadísticamente significativa. Tampoco hubo diferencias significativas entre los valores de triglicéridos y HDL en ambos grupos.

Los niveles observados de creatinina con respecto a los niveles basales no presentaron cambios significativos en M3 ni M6. En cambio, el grupo de probióticos presentó un empeoramiento significativo de la función renal determinado por un aumento del valor medio de creatinina de 0,06 mg/dl en el Mes 9 (p=0,01), mientras que, en el grupo del placebo, se observó una mejoría de la función renal con un descenso del nivel medio de creatina de – 0,08 mg/dl en el mes 9.

Se encontró una asociación significativa entre la toma de probióticos y los niveles postoperatorios de ácido fólico. En el grupo de probióticos, los niveles de ácido fólico (ng/mL) se redujeron en M3 y M6 comparado con M0 (-2,1±3,7 en M3 y -1,6±5,2 en M6). En el grupo placebo ocurrió a la inversa con un aumento significativo en M3 y M6 (0,17±4,3 en M3 y 1,3±9,9 en M6) (p = 0,029 y 0,034 en M3 y M6 respectivamente).. En M9 aumentaron los niveles medios de ácido fólico en el grupo de probióticos (+2,0±6,3) y se redujo en el de placebo (-1,4±4,8), sin alcanzar la significación estadística.

	GVL-prob				GVL				P *		
	Basal media n 44	Diferencia con los valores basales			Basal Media n 44	Diferencias con los valores basales			M3	M6	M9
		M3 n 44	M6 n 42	M9 n 43		M3 n 44	M6 n 43	M9 n 42			
<b>Glucosa (mg/dl)</b>	104,2±17,2	-9,2±20,5	-11,9±15,1	-17,8±19,3	111,2±38,1	-17,1±39,9	-23,5±36,1	0,75±14,2	0,67	0,34	0,74
<b>HbA1C (%)</b>	5,9±0,8	-0,4±0,4	0,5±0,5	0,1±0,05	5,7±0,9	0,5±0,8	0,4±0,4	0,2±0,07	0,65	0,66	0,13
<b>Triglicéridos (mg/dl)</b>	134±63,5	-3,8±38,0	-18,5±46,6	-28,3±37,8	154±108,5	-30,6±75,6	-42,6±83,9	-49,1±88,4	0,05	0,32	0,78
<b>HDL</b>	46,3±9,9	-5,8±7,3	-1±7,8	6,6±8,4	45,3±9,0	-3,4±10,1	+1±7,9	6,3±10,1	0,26	0,19	0,87
<b>Creatinina</b>	0,71±0,10	0,03±0,3	-0,02±0,07	<b>0,06±0,08</b>	0,71±0,12	-0,003±0,1	0,05±0,1	<b>-0,08±0,04</b>	0,91	0,19	<b>0,01</b>
<b>Albumina</b>	4,08±0,3	0,04±0,3	-0,01±0,3	0,2±0,5	4,1±0,2	0,02±0,2	0,1±0,6	0,1±0,7	0,86	0,69	0,84
<b>HTO</b>	42,6±4,8	-0,2±2,8	-1,0±2,8	0,06±2,8	39,8±6,7	0,2±9,6	0,1±10,3	-2,1±3,7	0,40	0,69	0,36
<b>Vitamina B12</b>	430,9±140	-55,7±138,2	101,0±124,3	-96,0±83,2	430±172	-44,3±153,5	15,4±201,8	121,0±107,1	0,71	0,08	0,46
<b>Ac.Fólico</b>	5,45±3,2	<b>-2,1±3,7</b>	<b>-1,6±5,2</b>	+2,0±6,3	6,1±4,4	<b>0,17±4,3</b>	<b>1,3±9,9</b>	-1,4±4,8	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	0,64
<b>Zinc</b>	79,3±12,8	3,4±15,5	5,6±18,2	2,02±15,0	77,7±14,8	6,9±19,9	2,6±13,8	-0,6±27,1	0,54	0,64	0,86
<b>Hierro</b>	65,3±30,4	10,7±36,2	16,7±37,5	16,4±29,9	74,8±32,5	-2,7±44,1	8,6±46,6	-12,5±34,4	0,28	0,56	0,22
<b>Vit D</b>	19,4±7,2	13,7±20,4	11,5±13,5	15,8±22,3	19,4±8,6	10,5±12,3	12,8±12,7	9,6±13,5	0,54	0,77	0,64
<b>Calcio</b>	9,4±0,3	0,09±0,36	0,2±0,36	0,3±0,25	9,4±0,4	0,2±0,27	0,2±0,34	0,1±0,4	0,11	0,86	0,31

**Tabla 21.** Cambios variables analíticas con respecto a los valores basales

Tabla 14 \*p-valor (t-student para variables que siguen la normalidad y U de Mann-Whitney para la no normalidad). Fondo oscuro las que siguen la normalidad.

#### 4.7. Análisis de la microbiota en muestras basales preoperatorias de los pacientes

##### GVL y GVL-Prob

##### 4.7.1. Análisis de la diversidad alfa en muestras basales

En la Tabla 22 se presentan los índices de alfa diversidad: índices de diversidad (Simpson, Shannon, inverso de Simpson, Fischer y OBS) y estimadores de riqueza (Chao1, seChao1, ACE y seACE), tanto para el nivel taxonómico de filo como género, para el total de sujetos y para cada uno de los grupos de intervención (GVL-prob) y

control (GVL). Al comparar los dos grupos, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre ambos y, por lo tanto, se asumió que los dos grupos de pacientes eran comparables en cuanto a la biodiversidad de su microbiota basal.

	Global		GVL- Prob		GVL		p
	$\underline{\chi}$	$\sigma$	$\underline{\chi}$	$\sigma$	$\underline{\chi}$	$\sigma$	
<b>Filo</b>							
Diversidad	n 36		n 21		n 15		
Simpson	0,574	0,096	0,556	0,108	0,600	,0717	<b>0,21</b>
Shannon	1,012	0,182	0,980	0,189	1,057	0,167	<b>0,34</b>
InvSimpso	2,435	0,456	2,341	0,400	2,566	0,510	<b>0,27</b>
Fischer	0,736	0,145	0,708	0,136	0,774	0,153	<b>0,20</b>
OBS	8,638	1,570	8,333	1,460	9,066	1,667	<b>0,18</b>
<b>Riqueza</b>							
Chao1	9,217	2,312	8,825	2,479	9,766	2,007	<b>0,07</b>
seChao1	1,055	1,682	0,849	1,750	1,344	1,594	<b>0,19</b>
ACE	10,867	3,429	10,207	3,318	11,658	3,504	<b>0,17</b>
seACE	1,275	0,266	1,265	0,279	1,287	0,257	<b>0,83</b>
<b>Género</b>							
Diversidad	n 36		n 21		n 15		
Simpson	0,848	0,070	0,832	0,073	0,871	0,061	<b>0,08</b>
Shannon	2,676	0,334	2,601	0,338	2,780	0,309	<b>0,15</b>
InvSimpson	8,032	3,446	7,100	2,906	9,338	3,807	<b>0,08</b>
Fischer	12,017	2,191	11,916	2,025	12,159	2,470	<b>0,78</b>
OBS	107,56	17,632	106,57	15,967	108,93	20,236	<b>0,78</b>
<b>Riqueza</b>							
Chao1	128,838	23,394	125,088	23,814	134,087	22,527	<b>0,23</b>
seChao1	13,059	7,775	11,301	7,026	15,520	8,334	<b>0,06</b>
ACE	129,412	19,758	127,163	18,875	132,560	21,185	<b>0,36</b>
seACE	5,472	0,541	5,478	0,575	5,463	0,511	<b>0,99</b>

**Tabla 22.** Alfa diversidad por grupo de intervención

#### 4.7.2. Análisis taxonómico de la composición microbiana en muestras basales

Del mismo modo se realizó un análisis taxonómico de la microbiota intestinal basal tanto de la población global, como un análisis diferencial entre los dos grupos para evaluar si ambos grupos eran comparables desde el punto de vista de composición microbiana (Tabla 23). No se encontraron diferencias significativas ni a

nivel de filo ni a nivel de género, y por lo tanto se asumió que los dos grupos de pacientes eran comparables en cuanto a la composición microbiana basal.

	Global		Probiótico		Placebo		P
	n 36		n 15		n 21		
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	
<b>Filo</b>							
Actinobacteria	0,878	1,501	48,976	0,670	0,971	1,899	,32
Bacteroidetes	50,612	11,698	34,978	10,105	51,780	12,828	,18
Firmicutes	35,105	12,833	0,323	9,519	35,196	14,992	,74
Fusobacteria	0,812	2,546	11,585	0,900	1,161	3,236	,99
Proteobacteria	10,231	6,235	0,090	6,642	9,263	5,899	,34
Synergistetes	0,223	0,941	3,118	0,223	0,318	1,222	,99
Verrucomicrobia	2,037	4,500	0,178	6,128	1,265	2,764	,47
Otros	0,098	0,352	48,976	0,538	0,042	0,0807	,14
<b>Genero</b>							
<b>Bifidobacterium</b>	0,360	1,387	0,091	0,115	0,552	1,807	,74
<b>Collinsella</b>	0,365	0,523	0,473	0,659	0,288	0,400	,22
<b>Bacteroides</b>	29,693	14,144	25,221	13,458	32,887	14,057	,09
Barnesiella	1,832	2,033	1,965	1,520	1,737	2,365	,41
Butyricimonas	0,973	0,844	1,115	0,759	0,871	0,905	,19
Coprobacter	0,237	0,365	0,169	0,205	0,286	0,444	,78
Odoribacter	1,321	2,802	2,024	4,257	0,819	0,647	,62
Parabacteroides	4,343	3,337	4,409	2,944	4,295	3,662	,47
Porphyromonas	0,245	0,566	0,305	0,669	0,202	0,494	,67
ud.Porphyromonadaceae	0,417	0,520	0,427	0,527	0,410	0,529	,69
Alloprevotella	0,546	1,831	0,418	1,599	0,638	2,015	,93
Paraprevotella	0,499	0,686	0,468	0,509	0,522	0,800	,71
Prevotella	5,10	6,828	5,855	7,960	4,575	6,042	,99
ud.Prevotellaceae	0,438	1,060	0,567	1,019	0,345	1,104	,39
Alistipes	4,215	3,284	5,372	3,954	3,389	2,492	,11
ud.Rikenellaceae	0,236	0,477	0,207	0,399	0,257	0,534	,92
ud.Bacteroidales	0,443	0,902	0,362	0,447	0,502	1,130	,83
Streptococcus	0,112	0,187	0,087	0,133	0,130	0,219	,78
Blautia	0,683	0,502	0,729	0,556	0,649	0,471	,71
Clostridium.XIVa	0,512	0,498	0,583	0,509	0,461	0,496	,47
Clostridium.XIVb	0,350	0,348	0,439	0,488	0,287	0,187	,51
Coprococcus	0,284	0,340	0,145	0,115	0,384	0,411	,06
Dorea	0,441	0,663	0,262	0,213	0,568	0,835	,43
Fusicatenibacter	2,095	3,230	1,647	2,589	2,415	3,649	,28
Lachnospiracea_incertae_sedis	1,277	1,528	0,936	1,224	1,521	1,699	,07
Roseburia	0,904	1,043	0,892	1,226	0,912	0,923	,49
Ruminococcus2	1,271	1,471	0,924	1,010	1,518	1,708	,34
ud.Lachnospiraceae	2,938	2,214	2,832	2,633	3,013	1,927	,31
Butyricoccus	0,101	0,149	0,128	0,219	0,083	0,067	,29
Clostridium.IV	0,344	0,539	0,388	0,749	0,313	0,336	,51
Faecalibacterium	4,826	4,753	4,820	3,551	4,830	5,542	,49
Flavonifractor	0,6745	0,573	0,534	0,549	0,774	0,581	,13
Gemmiger	0,5691	0,672	0,367	0,313	0,713	0,818	,55
Oscillibacter	1,348	1,180	1,550	1,339	1,204	1,063	,47
Ruminococcus	0,1250	0,301	0,122	0,239	0,126	0,345	,12
ud.Ruminococcaceae	4,806	4,693	5,064	3,512	4,622	5,462	,28
ud.Clostridiales	1,492	2,197	2,270	3,103	0,937	0,965	,21
Catenibacterium	0,093	0,271	0,134	0,376	0,064	0,166	,84
Clostridium.XVIII	0,202	0,435	0,200	0,387	0,204	0,476	,29
Holdemanella	0,387	0,873	0,713	1,262	0,154	0,287	,11
Acidaminococcus	1,505	2,051	1,582	1,940	1,449	2,173	,42
Phascolarctobacterium	2,719	4,430	2,814	4,000	2,651	4,810	,68
Succiniclasticum	0,174	0,711	0,219	0,824	0,141	0,638	,55
ud.Acidaminococcaceae	0,495	1,382	0,151	0,317	0,740	1,767	,65
Dialister	1,854	2,768	2,377	3,386	1,480	2,243	,76
Megamonas	0,279	0,930	0,104	0,194	0,405	1,203	,42

Megasphaera	0,396	1,098	0,353	1,184	0,427	1,061	,65
Veillonella	0,065	0,244	0,100	0,361	0,039	0,108	,13
ud.Firmicutes	0,593	0,752	0,578	0,516	0,604	0,896	,36
Fusobacterium	0,794	2,547	0,323	0,899	1,130	3,241	,93
ud.Fusobacteriaceae	0,017	0,101	0,000	0,000	0,030	0,133	,29
ud.Rhodospirillaceae	1,134	2,556	1,479	2,44	0,888	2,666	,21
ud.Rhodospirillales	0,324	1,205	0,391	1,451	0,277	1,031	,20
ud.Alphaproteobacteria	1,595	4,324	1,806	5,026	1,445	3,870	,59
Parasutterella	0,996	1,443	1,303	1,491	0,776	1,401	,05
Sutterella	1,420	2,089	1,123	1,723	1,632	2,334	,69
ud.Burkholderiales	0,982	1,631	1,030	1,618	0,948	1,680	,59
Bilophila	0,640	0,502	0,581	0,398	0,682	0,571	,71
Desulfovibrio	0,203	0,453	0,219	0,475	0,192	0,448	,48
ud.Desulfovibrionaceae	0,123	0,241	0,193	0,344	0,072	0,113	,62
ud.Desulfovibrionales	0,166	0,339	0,135	0,307	0,188	0,366	,39
ud.Deltaproteobacteria	0,254	0,901	0,508	1,353	0,073	0,235	,75
Campylobacter	0,539	1,297	0,941	1,783	0,251	0,715	,86
Succinivibrio	0,124	0,746	0,298	1,155	0,000	0,000	,98
Escherichia.Shigella	1,290	2,227	1,045	1,354	1,465	2,705	,88
Klebsiella	0,186	0,713	0,263	1,008	0,131	0,415	,64
ud.Enterobacteriaceae	0,024	0,071	0,008	0,014	0,036	0,091	,85
Acinetobacter	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	,92
Cloacibacillus	0,181	0,930	0,051	0,197	0,274	1,210	,54
Akkermansia	1,969	4,519	3,007	6,173	1,227	2,772	,30
Otros	1,819	1,179	1,772	1,178	1,853	1,207	,88

**Tabla23.** Abundancia relativa microbiota global, y por grupos.  $\bar{x}$  : media;  $\sigma$ : desviación estándar.

#### 4.8. Composición microbiana en muestra basal total

Tras comprobar que las muestras de microbiota basales de ambos grupos del estudio no mostraban diferencias significativas en ninguna de sus variables analizadas ni en sus índices de riqueza ni composición taxonómica, se valoró la composición microbiana basal de forma conjunta.

##### 4.8.1. Abundancia relativa a nivel de filo en muestra basal conjunta

Globalmente, el análisis de la abundancia relativa de cada taxón mostró que los filos más frecuentes fueron: *Bacteroidetes* (50,6%), *Firmicutes* (35,1%) y *Proteobacterias* (10,2%), representando el 96% de la microbiota intestinal basal (Figura 17).

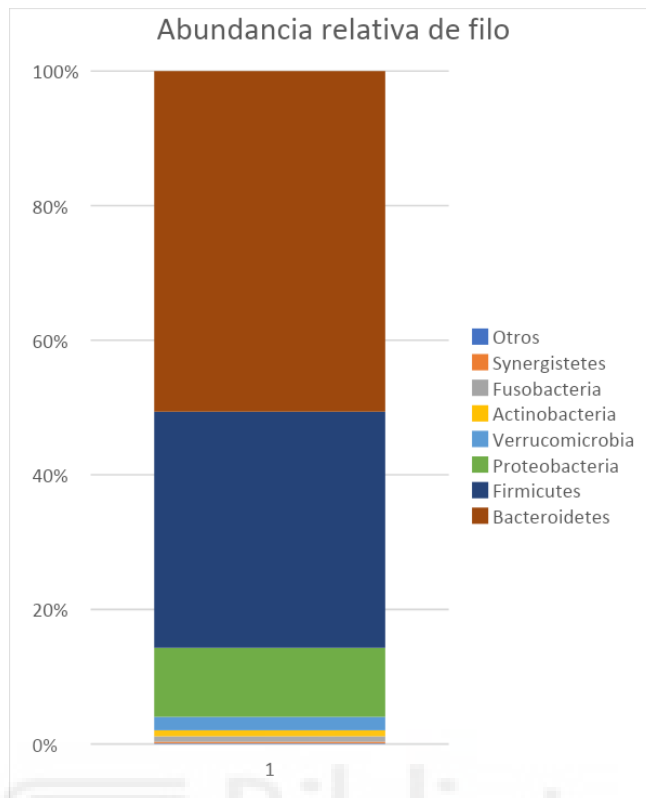


Figura 17. Abundancia relativa Filo población basal.

#### 4.8.2. Abundancia relativa a nivel de género en muestra basal

A nivel de género, las bacterias más predominantes fueron: *Bacteroidetes* (29,6%), *Prevotella* (5,1%), *Faecalibacterium* (4,82%), *ud.Ruminococcaceae* (4,8%), *Parabacteroides* (4,3%) y *Alistipes* (4,2%), representando el 49% de la microbiota intestinal basal (Figura 33).

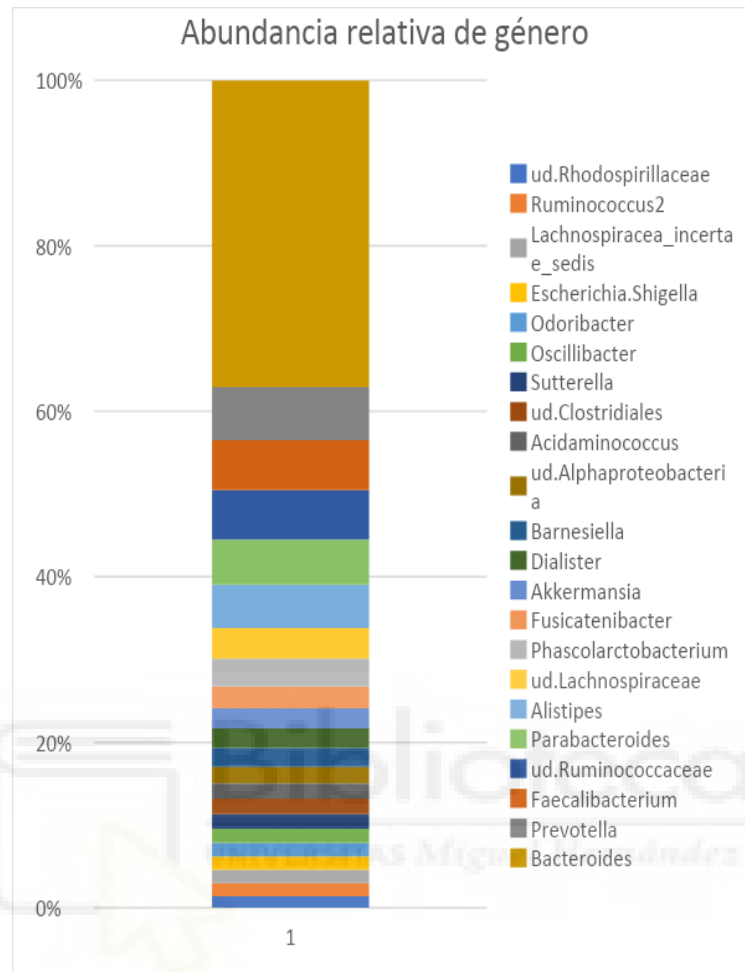


Figura 18. Abundancia relativa de Género población basal.

#### 4.9. Caracterización de la composición microbiana de la población de estudio y asociación con resultados clínicos y analíticos

##### 4.9.1. Análisis de la diversidad alfa y la pérdida de exceso de peso (>50% EPP)

Se analizó el impacto de la biodiversidad microbiana basal en función de si la pérdida de peso había sido exitosa (pérdida > 50% del exceso de peso) o no (<50% del EPP) en los meses 3 y 6. Los resultados se muestran en las Tablas 24 y 25.



	Alfa diversidad (éxito /fracaso) Mes 3				
	Filo				
	Éxito (n12)		Fracaso (n23)		p
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	
Simpson	0,556	0,050	0,583	0,113	0,06
Shannon	0,970	0,111	1,035	0,210	0,07
InvSimpson	2,281	0,279	2,521	0,517	<b>0,04 ↓ *</b>
Fischer	0,691	0,134	0,761	0,148	0,18
OBS	8,153	1,463	8,913	1,592	0,17
Chao1	8,256	1,552	9,760	2,517	0,08
seChao1	0,423	0,618	1,413	1,981	0,25
ACE	9,612	1,899	11,494	3,868	0,14
seACE	1,254	0,268	1,285	0,270	0,56
	Genero				
Simpson	0,816	0,082	0,866	0,057	0,09
Shannon	2,521	0,362	2,763	0,289	<b>0,04 ↓ *</b>
InvSimpson	6,768	3,366	8,747	3,352	0,09
Fischer	11,191	1,951	12,484	2,220	0,05
OBS	100,85	15,416	111,35	17,981	0,06
Chao1	119,945	21,999	133,864	23,099	0,09
seChao1	12,296	8,517	13,490	7,487	0,42
ACE	118,982	17,485	135,307	18,807	<b>0,01 ↓ *</b>
seACE	5,223	0,420	5,612	0,559	<b>0,03 ↓ *</b>

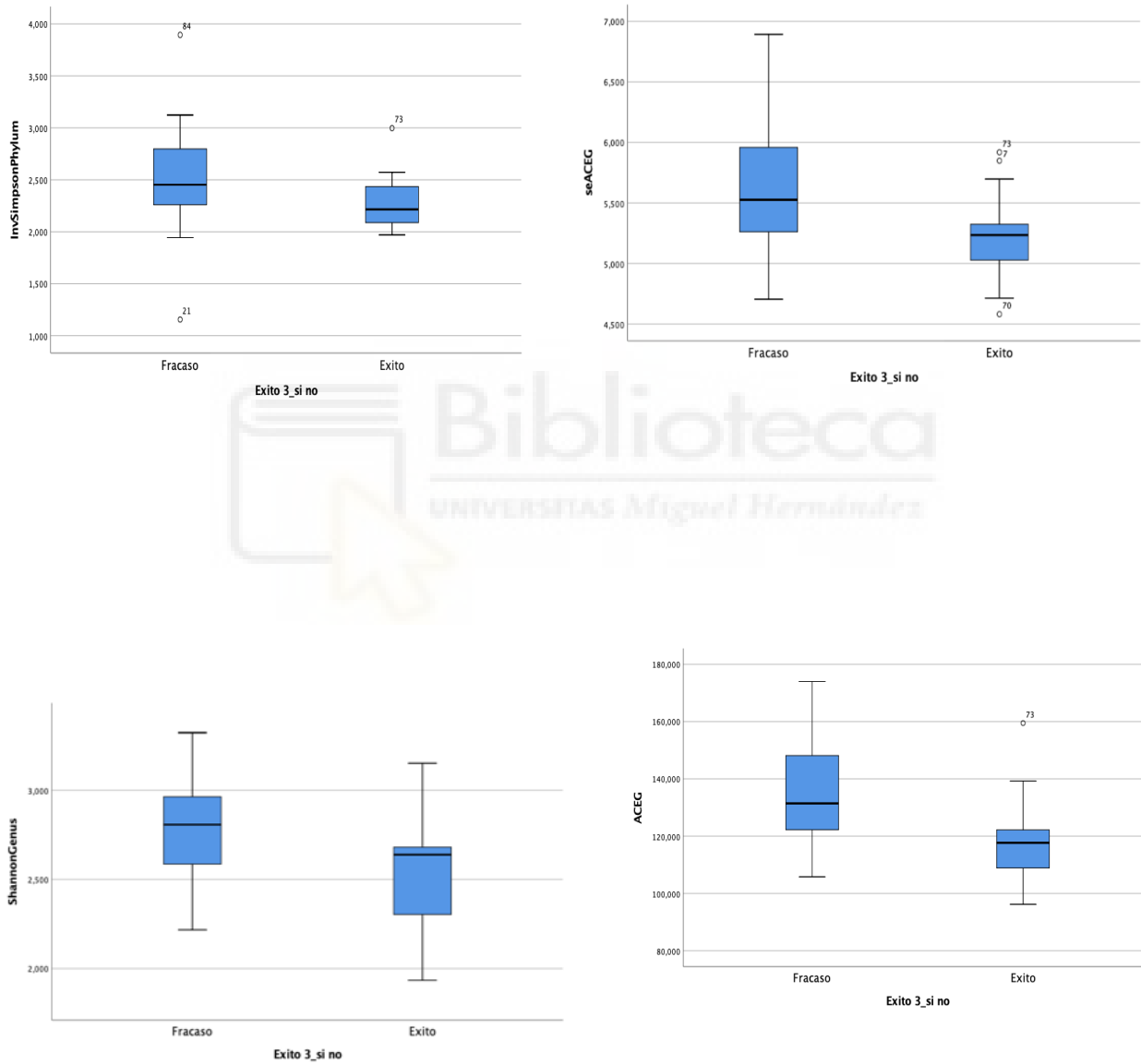
**Tabla 24.** Índices de diversidad y riqueza en mes 6 en función del éxito/fracaso de la pérdida del 50% del EPP después de la GVL. EPP: exceso de peso perdido.  $\bar{x}$ : media.  $\sigma$ : desviación tip. Éxito: pérdida de > 50% EPP. Fracaso: pérdida de < 50% EPP.

\* Tendencia a una menor diversidad y menor riqueza en la microbiota.

En el mes 3, globalmente los índices de alfa diversidad fueron menores en los pacientes que alcanzaron una reducción del exceso de peso >50 % (éxito) respecto a los pacientes que fracasaron, alcanzándose la significación estadística a nivel taxonómico de filo con el índice InvSimpson ( $2,28 \pm 0,1$  vs  $2,52 \pm 0,5$ , p-valor=0,046) y a nivel taxonómico de género con los índices de Shannon ( $2,52 \pm 0,3$  vs  $2,76 \pm 0,28$ , p-valor=0,046), ACE ( $118,9 \pm 17$  vs  $135 \pm 18$ , p-valor=0,01) y seACE ( $5,2 \pm 0,4$  vs  $5,6 \pm 0,5$ , p-valor=0,034).

En la Figura 34 se representa los cuatro diagramas de cajas los valores de los índices de diversidad y riqueza que resultaron estadísticamente significativos.

Figura 19. Diagrama de cajas de índices de diversidad y riqueza con  $p < 0,05$ .



A continuación, se muestra la alfa diversidad en el mes 6 en función de la variable éxito (> 50% del EPP en el mes 6) o fracaso (< 50% del EPP en el mes 6).

	Diversidad (éxito /fracaso) Mes 6				
	Filo				
	Éxito (n25)		Fracaso (n9)		P(tendencia)
	$\underline{x}$	$\sigma$	$\underline{x}$	$\sigma$	
Simpson	0,556	0,103	0,625	0,060	0,03 ↓
Shannon	0,979	0,182	1,111	0,163	0,05 ↓
InvSimpson	2,333	0,400	2,741	0,521	0,02 ↓
Fischer	0,715	0,126	0,822	0,160	0,07
OBS	8,423	01,361	9,555	1,740	0,08
Chao1	8,955	2,152	10,333	2,449	0,13
seChao1	0,983	1,648	1,381	1,901	0,67
ACE	10,615	3,09	12,052	3,997	0,22
seACE	1,304	0,279	1,240	0,218	0,76
Genero					
Simpson	0,831	0,075	0,890	0,022	0,05
Shannon	2,597	0,357	2,875	0,137	0,01 ↓
InvSimpson	7,385	3,688	9,472	1,968	0,05
Fischer	11,483	1,928	13,706	2,243	0,01 ↓
OBS	103,31	15,317	120,89	18,891	0,01 ↓
Chao1	122,883	22,472	145,452	19,670	0,01 ↓
seChao1	12,210	7,987	14,650	7,236	0,12
ACE	123,938	17,941	145,222	17,981	0,01 ↓
seACE	5,355	0,559	5,791	0,380	0,01 ↓

**Tabla 25.** Índices de diversidad y riqueza en mes 6 en función del éxito/fracaso de la pérdida del 50% del EPP después de la GVL. EPP: exceso de peso perdido.  $\underline{x}$ : media.  $\sigma$ : desviación tip. Éxito: pérdida de > 50% EPP. Fracaso: pérdida de < 50% EPP.

\* Tendencia a una menor diversidad y menor riqueza en la microbiota.

En el mes 6, observamos de nuevo una menor biodiversidad en los pacientes con éxito (EPP > 50%), aunque las diferencias alcanzaron la significación estadística con mayor número de índices de biodiversidad: Simpson (0,55±0,1 vs 0,62±0,06, p-valor=0,033), Shannon (0,98±0,18 vs 1,11±0,16, p-valor=0,05) e InvSimpson (2,33±0,4 vs 2,74±0,52, p-valor=0,029) a nivel de filo y prácticamente todos los índices de diversidad y estimadores de riqueza a nivel de género, tal y como se muestra en la Tabla 25 y se representa los diagramas de cajas (figuras 20- 26).

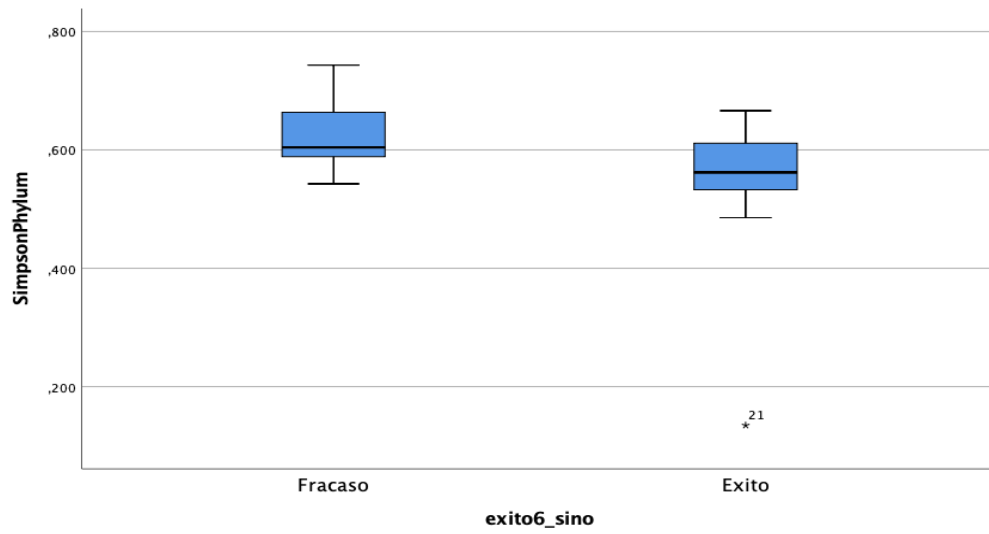


Figura 20. Índice Simpson en Filo. .

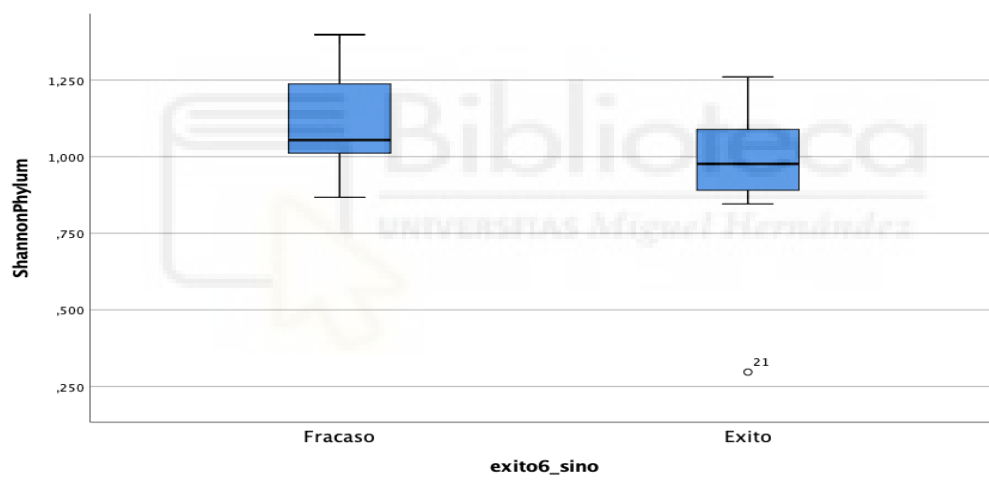


Figura 21. Índice Shannon en Filo.

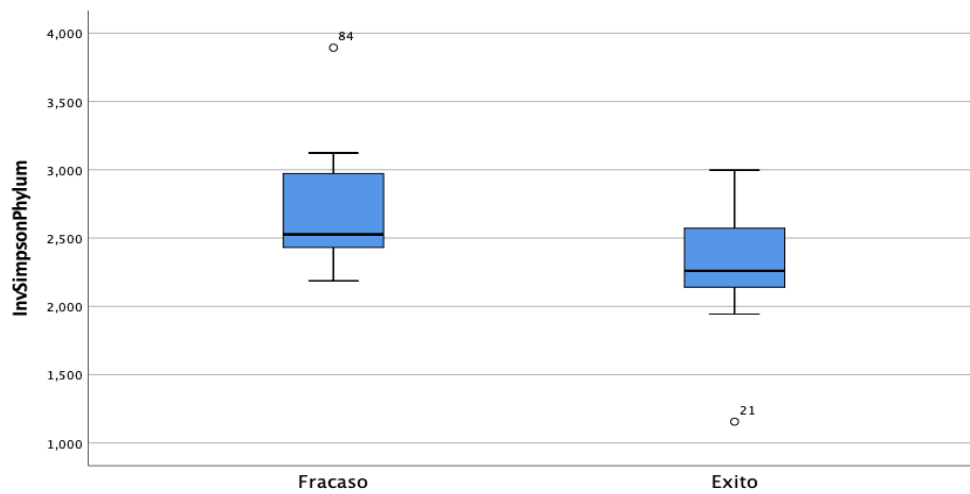


Figura 22. Índice inverso de Simpson en Filo.

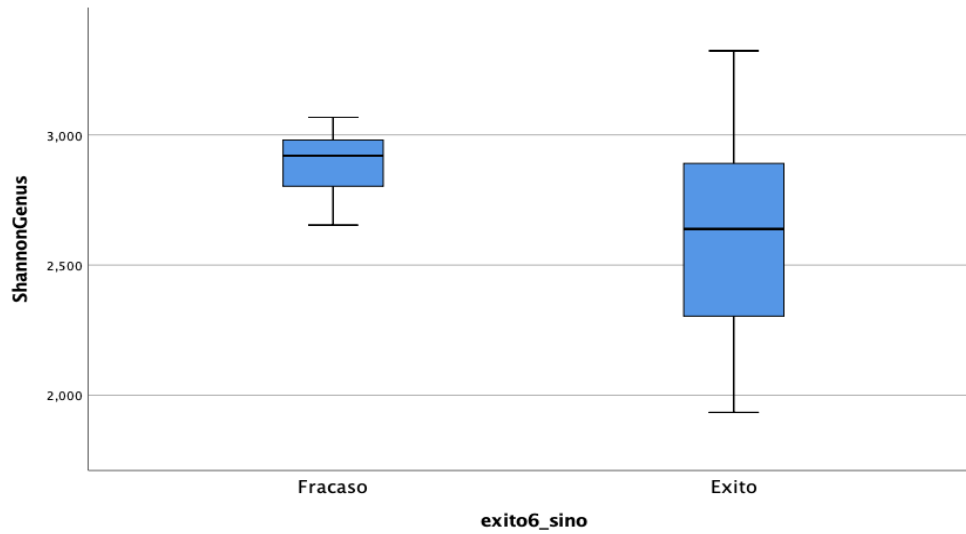


Figura 23. Índice de Shannon en Género.

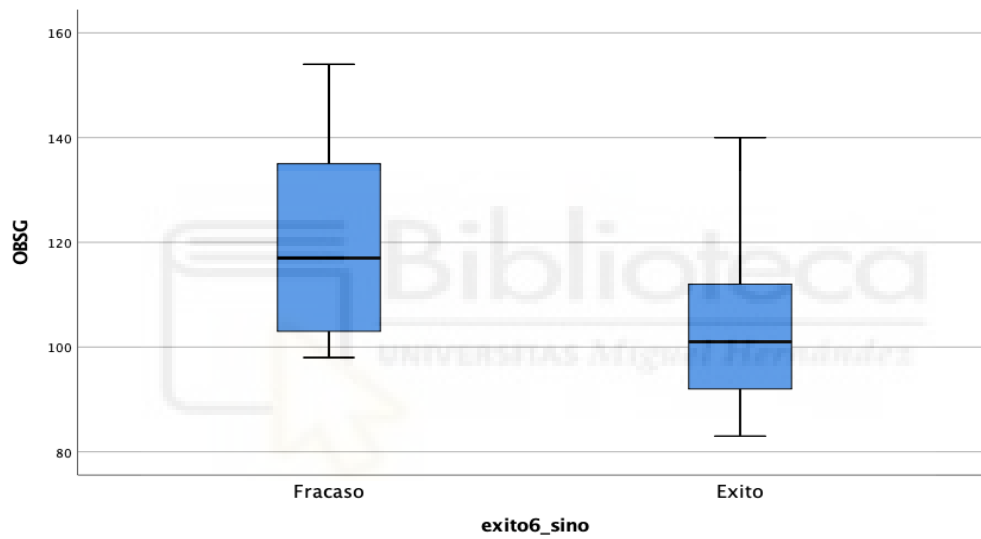


Figura 24. Índice OBS en Género.

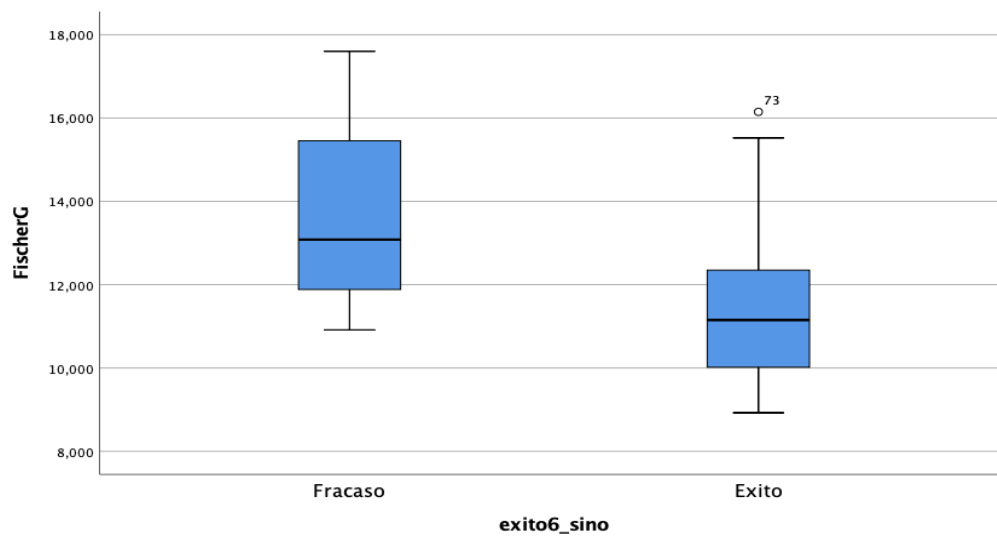


Figura 25. Índice de Fischer en Género.

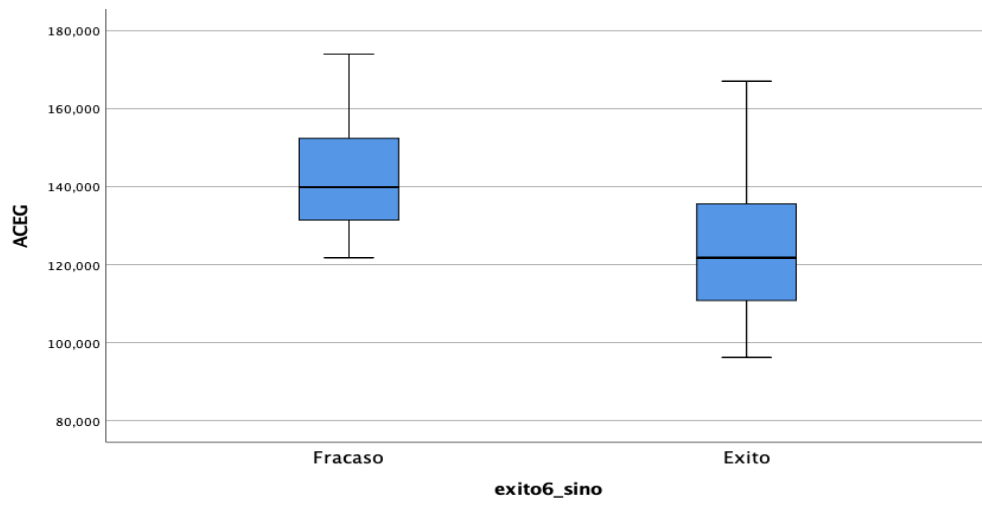


Figura 26. Índice de ACE en Género.

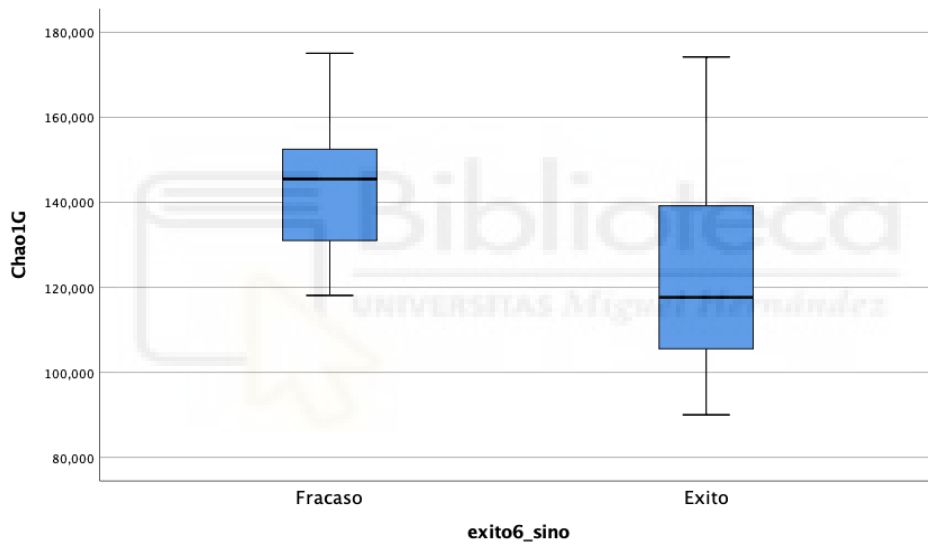


Figura 27. Índice de Chao1 en Género.

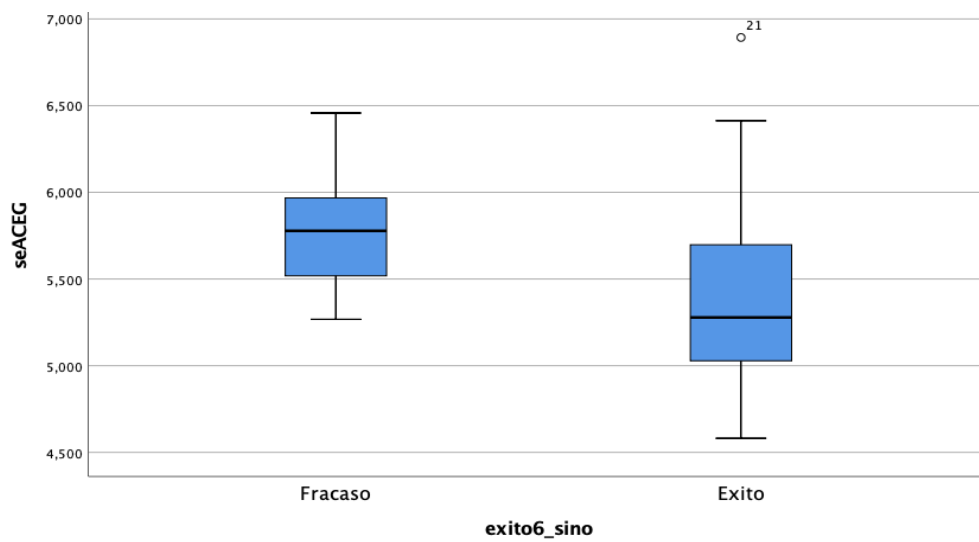


Figura 28. Índice de seACEG en Género.

#### 4.9.2. Análisis taxonómico y la pérdida del exceso de peso (>50% EPP)

Del mismo modo que la biodiversidad, se analizó el impacto de la composición microbiana basal en función de si la pérdida de peso había sido exitosa (pérdida > 50% del EPP) en los meses 3 y 6. La abundancia relativa de los diferentes taxones y su relación con la pérdida del exceso de peso se presenta a continuación (Tabla 26 y Tabla 27).

	Éxito (n=12)		Fracaso (n=23)		P (tendencia)
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	
Actinobacteria	0,664	0,868	1,000	1,770	0,331
Bacteroidetes	56,561	7,183	47,250	12,524	<b>0,014 ↑</b>
Firmicutes	32,118	7,410	36,794	14,961	0,542
Fusobacteria	0,205	0,598	1,156	3,127	0,654
Proteobacteria	8,701	4,911	11,096	6,822	0,439
Synergistetes	0,034	0,083	0,331	1,172	0,330
Verrucomicrobia	1,686	2,454	2,237	5,368	0,142
Otros_	0,032	0,035	0,137	0,440	0,780
Firmicutes/Bacteroidetes	0,589	0,196	1,394	3,173	0,162

**Tabla 26. Abundancia relativa Filo según variable éxito/fracaso de pérdida del 50% EPP en el mes 3.** EPP: exceso de peso perdido.  $\bar{x}$ : media.  $\sigma$ : desviación tip. Éxito: pérdida de > 50% EPP. Fracaso: pérdida de < 50% EPP.

Al comparar la abundancia relativa de los filos identificados basalmente con el éxito o el fracaso en el mes 3, observamos un porcentaje de abundancia relativa de *Bacteroidetes* estadísticamente superior en el grupo de éxito comparado con el grupo de fracaso (56,5±7,1 % vs 47,2±12,5, p-valor=0,014). Los demás filos presentaron menores porcentajes en el grupo de éxito, aunque no alcanzaron significación estadística (Tabla 26).

Cuando comparamos la abundancia relativa de los filos en el mes 6 entre los dos grupos, observamos de nuevo, que el porcentaje de abundancia relativa de *Bacteroidetes* era significativamente superior en el grupo de éxito comparado con el grupo de fracaso (52,6 ±12 vs 46,8 ±6, p-valor=0,038) (Tabla 27). El resto de los filos presentaron menores abundancias relativas a nivel de filo en el grupo de éxito, pero sin alcanzar la significación estadística.

	Éxito (n=26)		Fracaso (n=9)		P (tendencia)
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	
Actinobacteria	1,038	1,741	0,464	0,293	0,473
Bacteroidetes	52,697	12,275	46,831	6,835	<b>0,038 ↑</b>
Firmicutes	34,775	13,513	33,637	9,363	0,792
Fusobacteria	0,586	1,836	1,557	4,118	0,341
Proteobacteria	9,173	5,814	13,072	7,162	0,187
Synergistetes	0,273	1,099	0,106	0,276	0,185
Verrucomicrobia	1,416	2,649	4,059	7,765	0,533
Otros_	0,041	0,074	0,274	0,694	0,174
Firmi/Bact	1,205	3,000	0,723	0,199	0,450

**Tabla 27. Abundancia relativa Filo según variable éxito/fracaso de pérdida del 50% EPP en el mes 6.**

EPP: exceso de peso perdido.  $\bar{x}$ : media.  $\sigma$ : desviación tip.

Éxito: pérdida de > 50% EPP. Fracaso: pérdida de < 50% EPP.

- **Abundancia relativa de los géneros y pérdida de exceso de peso en mes 3**

	Éxito (n12)		Fracaso (n23)		p (tendencia)
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\bar{x}$	$\sigma$	
Bacteroides	35,395	14,919	26,470	12,916	0,14
Parabacteroides	5,562	4,156	3,654	2,631	0,21
Alistipes	4,925	4,180	3,815	2,677	0,61
Prevotella	4,011	7,153	5,729	6,719	0,30
ud.Ruminococcaceae	3,927	3,192	5,304	5,365	0,56
Fusicatenibacter	3,422	4,380	1,346	2,124	0,17
Faecalibacterium	3,108	3,277	5,797	5,231	0,05
Phascolarctobacterium	3,092	3,965	2,509	4,747	0,58
ud.Lachnospiraceae	2,976	2,669	2,917	1,979	0,78
Barnesiella	2,076	2,839	1,695	1,459	0,81
ud.Burkholderiales	1,585	2,082	0,642	1,240	0,57
Otros_g	1,555	0,897	1,969	1,307	0,28
ud.Clostridiales	1,551	2,931	1,460	1,730	0,28
Akkermansia	1,528	2,507	2,218	5,375	0,11
minococcus2	1,423	1,929	1,185	1,180	0,78
Acidaminococcus	1,414	2,638	1,557	1,701	0,13
Butyricimonas	1,288	1,223	0,796	0,477	0,48
Dialister	1,230	1,910	2,208	3,137	0,15
Escherichia.Shigella	1,197	2,696	1,343	1,980	0,31
Oscillibacter	1,188	0,851	1,440	1,341	0,73
Sutterella	1,015	1,882	1,649	2,206	0,28



ud.Acidaminococcaceae	0,948	2,155	0,239	0,565	0,09
Lachnospiraceae_incertae_sedis	0,897	1,148	1,492	1,692	0,20
Parasutterella	0,868	1,357	1,069	1,514	0,73
Bilophila	0,860	0,662	0,516	0,344	0,23
ud.Rhodospirillaceae	0,832	1,799	1,305	2,924	0,07
Blautia	0,707	0,518	0,669	0,505	0,80
ud.Prevotellaceae	0,704	1,633	0,288	0,520	0,33
ud.Bacteroidales	0,679	1,432	0,311	0,356	0,93
Odoribacter	0,666	0,632	1,692	3,447	0,12
Flavonifractor	0,639	0,720	0,695	0,489	0,35
ud.Deltaproteobacteria	0,626	1,436	0,045	0,201	0,91
Clostridium.XIVa	0,569	0,565	0,480	0,467	0,48
Clostridium.IV	0,538	0,835	0,236	0,219	0,28
Roseburia	0,532	0,650	1,114	1,173	0,11
ud.Alphaproteobacteria	0,528	1,374	2,199	5,260	0,09
ud.Firmicutes	0,490	0,454	0,652	0,882	0,96
Holdemanella	0,481	0,755	0,335	0,946	0,13
Dorea	0,385	0,453	0,473	0,765	0,83
Campylobacter	0,359	1,130	0,641	1,397	0,49
ud.Porphyromonadaceae	0,344	0,382	0,459	0,589	0,66
Collinsella	0,340	0,505	0,380	0,544	0,46
Paraprevotella	0,332	0,387	0,595	0,801	0,52
Megamonas	0,324	0,863	0,255	0,984	0,45
Coprococcus	0,323	0,437	0,263	0,282	0,93
<b>Gemmiger</b>	0,275	0,316	0,735	0,765	0,02 ↓
Clostridium.XIVb	0,270	0,140	0,397	0,420	0,63
Coprobacter	0,254	0,446	0,228	0,322	0,84
Desulfovibrio	0,208	0,434	0,201	0,474	0,44
ud.Desulfovibrionales	0,207	0,411	0,143	0,300	0,40
Fusobacterium	0,205	0,598	1,127	3,132	0,73
Bifidobacterium	0,191	0,384	0,456	1,719	0,71
Porphyromonas	0,161	0,417	0,294	0,640	0,39
Clostridium.XVIII	0,152	0,148	0,231	0,536	0,13
ud.Desulfovibrionaceae	0,124	0,341	0,123	0,172	0,64
Megasphaera	0,124	0,235	0,551	1,349	0,22
Ruminococcus	0,084	0,228	0,149	0,339	0,60
ud.Rikenellaceae	0,076	0,238	0,327	0,555	0,14
Streptococcus	0,072	0,138	0,136	0,210	0,42
<b>Butyricoccus</b>	0,051	0,037	0,131	0,180	0,02 ↓
ud.Rhodospirillales	0,045	0,149	0,483	1,493	0,39
Klebsiella	0,030	0,106	0,275	0,884	0,19
Cloacibacillus	0,012	0,036	0,277	1,161	0,81
Veillonella	0,008	0,010	0,098	0,304	0,14
Succiniclasicum	0,006	0,019	0,269	0,883	0,60
ud.Enterobacteriaceae	0,004	0,006	0,036	0,088	0,11
Catenibacterium	0,003	0,010	0,145	0,331	0,09
Alloprevotella	0,001	0,001	0,855	2,250	0,49
Acinetobacter	0,001	0,001	0,000	0,001	0,65
Succinivibrio	0,000	0,000	0,195	0,933	0,93
ud.Fusobacteriaceae	0,000	0,000	0,028	0,127	0,11

**Tabla 28.** Abundancia relativa Género según variable éxito/fracaso de pérdida del 50% EPP en el mes 3. EPP: exceso de peso perdido.  $\bar{x}$ : media.  $\sigma$ : desviación tip.  
Éxito: pérdida de > 50% EPP. Fracaso: pérdida de < 50% EPP.

En la Tabla 28 se muestra la abundancia relativa de Género en la microbiota basal en función de hubo éxito en la pérdida de peso (>50% EEP) en el mes 3 de seguimiento. Entre los 70 géneros bacterianos identificados en las muestras de heces, *Bacteroides* fue el más abundante en ambos grupos: 35,3% en el grupo de éxito y 26,4% en el grupo de fracaso, con un porcentaje mayor en el grupo de éxito (como en

el filo Bacteroidetes) pero sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas, a este nivel taxonómico. Los géneros enriquecidos, con porcentajes de abundancia relativa >1%, en los pacientes que alcanzaron el éxito (>50% EPP) en el mes 3 fueron: *Parabacteroides* (5,5%), *Alistipes* (4,9%), *Fusicantenibacter* (3,4%), *Phascolarctobacterium* (3%), *Barnesiella* (2%), *Minococcus2* (1,4%), *Butyricimonas* (1,2%), *Dialister* (1,2%) y *Oscillibacter* (1,1%) Mientras que los géneros más representativos en los pacientes que fracasaron fueron: *Prevotella* (5,7%), *ud.Ruminococaceae* (5,3%), *Faecalibacterium* (5,7%), *Escherichia.Shigella* (1,3%) y *Suturella* (1,6%).

El resto de los géneros presentaron abundancias por debajo del 1%. Entre ellos, dos géneros mostraron diferencias estadísticamente significativas al comparar entre grupos de pacientes de éxito versus fracaso: *Gemminger* y *Butyricoccus*. En ambos casos, las bacterias estaban más enriquecidas en los pacientes que no alcanzaron el 50% del EPP ( $p=0,026$  y  $p=0,022$ , respectivamente) como se observa en figuras 29 y 30.

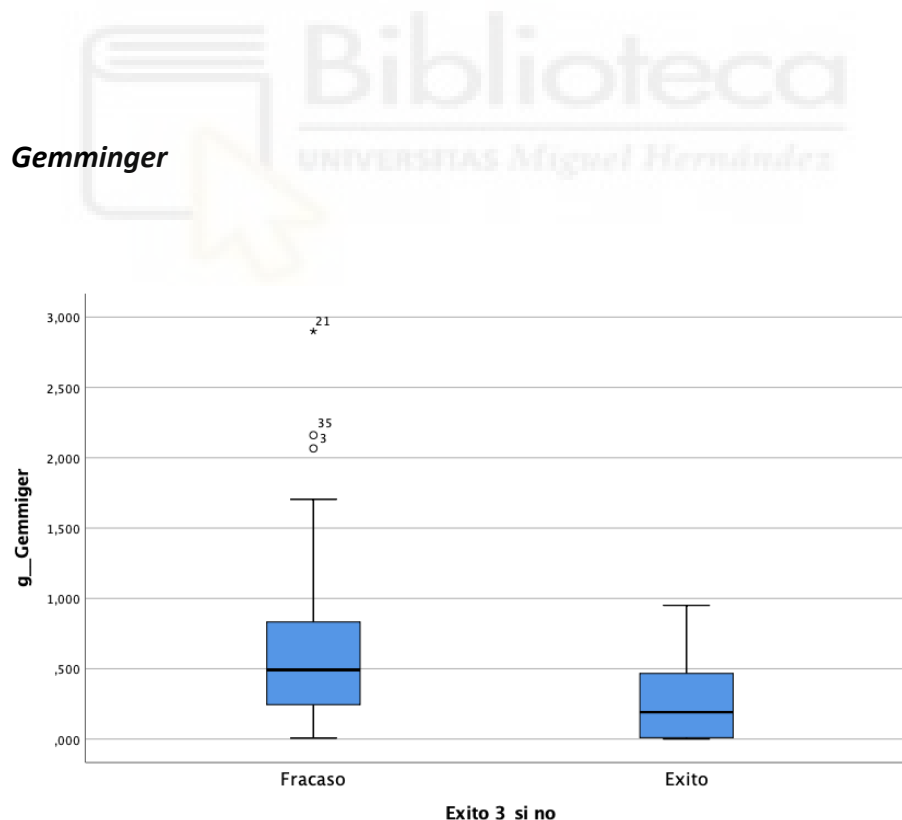


Figura 29. Abundancia relativa Género *Gemminger* en grupo fracaso comparado con grupo de éxito (pérdida de 50% EPP en mes 3)

## Butyricoccus

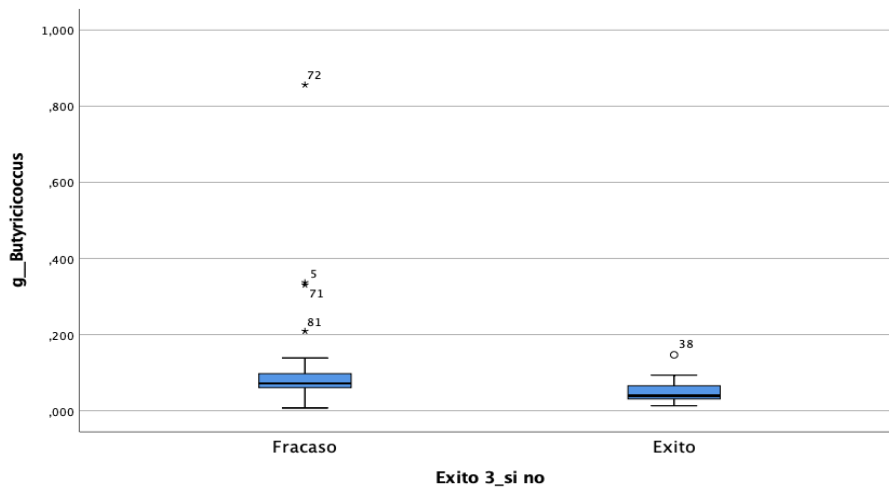


Figura 30. Abundancia relativa Género *Butyricoccus* en grupo fracaso comparado con grupo de éxito (pérdida de 50% EPP en mes 3)

- **Abundancia relativa de los géneros y pérdida de exceso de peso en el mes 6**

A continuación, se muestra la abundancia relativa de Género en función de si ha habido éxito o fracaso en la pérdida de peso (>50% EPP) en el mes 6 del seguimiento (Tabla 29).

	Éxito (n26)		Fracaso (n9)		P valor (tendencia)
	$\bar{X}$	$\sigma$	$\bar{X}$	$\sigma$	
Bacteroides	32,338	15,119	23,259	8,771	0,131
Prevotella	4,905	7,103	6,264	6,436	0,274
ud.Ruminococcaceae	4,881	5,179	4,634	3,536	0,571
Parabacteroides	4,547	3,655	3,973	2,490	0,880
Faecalibacterium	4,518	4,904	4,823	3,915	0,678
Alistipes	4,237	3,631	3,998	2,384	0,763
Phascolarctobacterium	3,073	4,860	2,002	3,188	0,836
ud.Lachnospiraceae	2,821	2,029	3,011	2,798	0,734
<b><i>Fusicatenibacter</i></b>	2,685	3,631	0,401	0,331	<b>0,013</b> ↑↑
Barnesiella	1,969	2,240	1,410	1,463	0,651
Otros_g	1,629	0,958	2,442	1,615	0,122
Lachnospiraceae_incertae_sedis	1,440	1,697	0,786	0,926	0,187
Dialister	1,428	2,145	2,183	3,189	0,326
ud.Clostridiales	1,427	2,204	1,787	2,394	0,763
Oscillibacter	1,383	1,089	0,832	0,568	0,163
Sutterella	1,335	2,031	1,696	2,470	0,734
Akkermansia	1,328	2,671	4,040	7,774	0,343
Ruminococcus2	1,300	1,508	1,319	1,476	0,850
ud.Alphaproteobacteria	1,181	3,506	2,968	6,358	0,162
<b><i>Acidaminococcus</i></b>	1,180	2,045	2,470	1,989	<b>0,014</b> ↓↓
ud.Burkholderiales	1,136	1,816	0,648	1,013	0,925
Escherichia.Shigella	1,097	2,200	1,992	2,386	0,064

ud.Rhodospirillaceae	1,083	2,580	0,576	1,534	0,268
Butyricimonas	1,007	0,959	0,860	0,478	0,910
Odoribacter	0,840	0,670	2,857	5,416	0,227
Parasutterella	0,778	1,266	1,524	1,879	0,212
Roseburia	0,706	0,839	1,530	1,403	0,152
Flavonifractor	0,688	0,578	0,501	0,423	0,497
Bilophila	0,668	0,526	0,467	0,340	0,473
ud.Firmicutes	0,654	0,817	0,440	0,588	0,473
Blautia	0,649	0,475	0,781	0,621	0,651
Gemmiger	0,635	0,765	0,346	0,262	0,678
ud.Acidaminococcaceae	0,585	1,591	0,291	0,589	0,635
Fusobacterium	0,585	1,833	1,488	4,140	0,322
<b>Campylobacter</b>	0,528	1,473	0,630	0,734	0,025 ↓
Paraprevotella	0,524	0,720	0,488	0,636	0,835
Bifidobacterium	0,486	1,623	0,029	0,025	0,186
Dorea	0,483	0,753	0,352	0,358	0,734
Clostridium.XIVa	0,460	0,488	0,651	0,557	0,450
ud.Bacteroidales	0,458	1,023	0,442	0,529	0,497
ud.Prevotellaceae	0,450	1,192	0,452	0,680	0,070
Collinsella	0,423	0,603	0,204	0,148	0,428
Clostridium.IV	0,413	0,622	0,165	0,092	0,174
Megamonas	0,369	1,083	0,054	0,158	0,891
ud.Deltaproteobacteria	0,351	1,050	0,004	0,005	0,238
Megasphaera	0,342	1,004	0,601	1,433	0,149
ud.Porphyrromonadaceae	0,338	0,403	0,667	0,765	0,734
ud.Rikenellaceae	0,315	0,544	0,036	0,043	0,485
Holdemanella	0,305	0,585	0,170	0,285	0,602
Coprococcus	0,298	0,375	0,244	0,259	0,792
Clostridium.XIVb	0,282	0,178	0,374	0,312	0,497
Alloprevotella	0,272	1,381	1,401	2,760	0,149
Coprobacter	0,253	0,385	0,218	0,335	0,570
ud.Rhodospirillales	0,229	0,929	0,635	1,876	0,745
Cloacibacillus	0,220	1,088	0,090	0,253	0,941
Desulfovibrio	0,205	0,429	0,222	0,564	0,378
Clostridium.XVIII	0,197	0,427	0,223	0,509	0,385
Porphyromonas	0,184	0,470	0,450	0,806	0,526
ud.Desulfovibrionales	0,155	0,336	0,218	0,380	0,495
Ruminococcus	0,134	0,341	0,092	0,180	0,969
ud.Desulfovibrionaceae	0,128	0,263	0,124	0,194	0,818
Succiniclasticum	0,117	0,574	0,357	1,065	0,705
Catenibacterium	0,098	0,305	0,091	0,176	0,124
Klebsiella	0,086	0,366	0,498	1,290	0,130
Streptococcus	0,073	0,135	0,229	0,276	0,163
Butyricicoccus	0,061	0,031	0,193	0,271	0,345
Veillonella	0,030	0,098	0,172	0,464	0,405
ud.Enterobacteriaceae	0,013	0,035	0,061	0,128	0,057
ud.Fusobacteriaceae	0,001	0,004	0,068	0,204	0,259
Acinetobacter	0,000	0,001	0,000	0,001	0,929
Succinivibrio	0,000	0,001	0,497	1,492	0,852

**Tabla 29.** Abundancia relativa Género según variable éxito/fracaso de pérdida del 50% EPP en el mes 6. EPP: exceso de peso perdido.  $\bar{x}$ : media.  $\sigma$ : desviación tip.  
Éxito: pérdida de > 50% EPP. Fracaso: pérdida de < 50% EPP.

En el mes 6, encontramos una dominancia similar de *Bacteroides*: 32% en grupo de éxito vs 23% en grupo de fracaso sin significación estadística, y tres géneros bacterianos con abundancia relativa >1% y diferencias significativas entre los dos grupos: *Fusicatenibacter*, más enriquecido en el grupo de éxito (2,7% vs 0,4%,  $p=0,013$ ) (Figura 30) y *Acidaminococcus* y *Campylobacter*, más enriquecidos en el

grupo de fracaso (1,1% vs 2,4%,  $p=0,014$ ; 0,53% vs 0,63%,  $p=0,025$ , respectivamente) (Figuras 38-40).

### ***Fusicatenibacter***

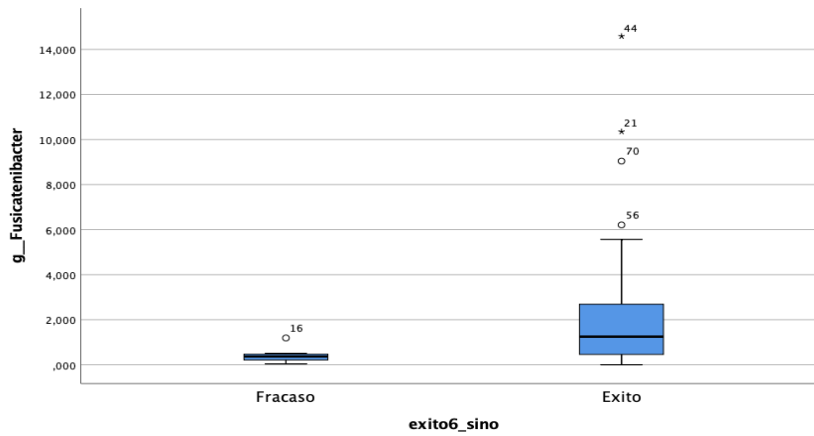


Figura 31. Diagrama de cajas *Fusicatenibacter*

### ***Acidaminococcus***

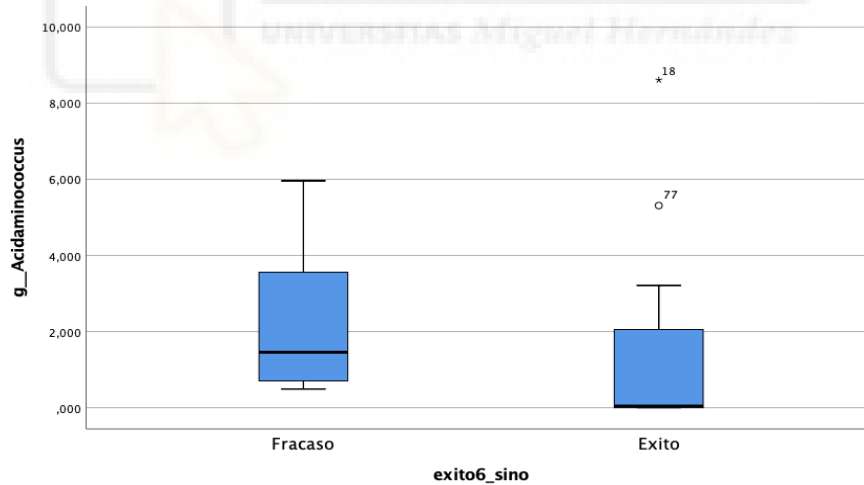


Figura 32. Diagrama de cajas *Acidaminococcus*

## ***Campylobacter***

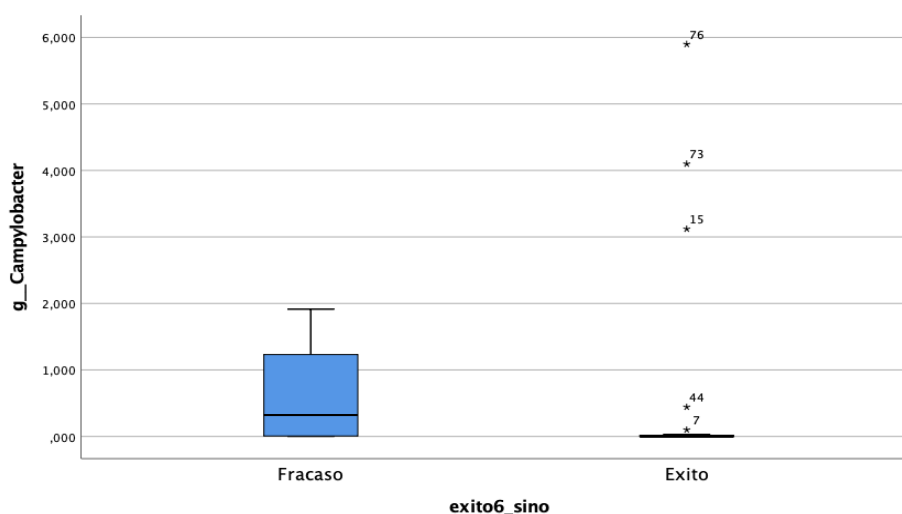


Figura 33.. Diagrama de cajas *Campylobacter*

### **4.9.3. Análisis alfa diversidad en función de comorbilidades clínicas**

Finalmente, se realizó un análisis diferencial de la alfa diversidad en función de las variables clínicas (DM, HTA, DL, SAOS y síndrome metabólico). A nivel de filo, los estimadores de riqueza mostraron una mayor riqueza en los pacientes sin síndrome metabólico estadísticamente significativa (OBS: 7,5 vs 8,96,  $p=0,034$ ; Chao1: 7,69 vs 9,65,  $p=0,043$  y seACE: 1,03 vs 1,33,  $p=0,018$ ; presencia versus ausencia de síndrome metabólico, respectivamente). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ni a nivel de filo ni a nivel de género con el resto de las variables (DM, HTA, DL, SAOS).

En cuanto al análisis de la composición microbiana, todos los grupos mostraron diferencias estadísticamente significativas a nivel de género, tal y como se muestra en la siguiente tabla.

Comorbilidades Géneros	$\bar{x} \pm \sigma$		$\bar{x} \pm \sigma$		p
DM	Presencia n=12		Ausencia n=24		
Dorea	0,474	0,387	0,424	0,773	,027
Clostridium.IV	0,155	0,082	0,439	0,641	,044
HTA	Presencia n=18		Ausencia n=18		
Porphyromonas	0,385	0,664	0,106	0,424	,013
Dorea	0,474	0,413	0,408	0,856	,043
Lachnospiracea_incertae_sedis	0,806	0,963	1,749	1,846	,046
Ruminococcus2	1,805	1,831	0,737	0,704	,014
Oscillibacter	0,911	0,782	1,787	1,360	,012
DL	Presencia n=5		Ausencia n=31		
ud.Rhodospirillaceae	0,000	0,000	1,317	2,716	,049
ud.Rhodospirillales	0,000	0,000	0,377	1,294	,028
ud.Alphaproteobacteria	0,005	0,010	1,852	4,618	,042
Cloacibacillus	1,120	2,479	0,029	0,138	,044
SAOS	Presencia n=14		Ausencia n=22		
Coprobacter	0,104	0,213	0,322	0,418	,050
Odoribacter	2,333	4,334	0,678	0,580	,035
Gemmiger	0,329	0,557	0,721	0,706	,015
Escherichia.Shigella	1,983	2,715	0,850	1,784	,018
Síndrome metabólico (ATP)	Presencia n=8		Ausencia n=28		
Parabacteroides	5,663	2,612	3,966	3,465	,040
Alloprevotella	1,568	2,901	0,254	1,330	,036
Dorea	0,585	0,424	0,399	0,719	,012
Ruminococcus2	2,687	2,349	0,866	0,782	,010
Faecalibacterium	2,202	2,497	5,576	5,005	,040
ud.Clostridiales	0,759	1,213	1,702	2,381	,036
ud.Firmicutes	0,138	0,184	0,724	0,804	,009
Bilophila	0,962	0,649	0,549	0,422	,027
ud.Enterobacteriaceae	0,086	0,138	0,007	0,015	,048

**Tabla 30.** Análisis composición microbiana en función de la presencia o ausencia de comorbilidades clínicas  
 $\bar{x}$ : media.  $\sigma$ : desviación tip.

#### 4.9.4. Análisis multivariante de diversidad beta en la muestra basal

Se realizó un análisis de diversidad beta con el objeto de evaluar las diferencias observadas en el análisis univariante y medir si las diferencias en la composición bacteriana presentaban posibles asociaciones con las variables incluidas en el estudio. Para ello, se realizó un análisis multivariante de Componentes Principales para evaluar tanto las diferencias asociadas con las variables clínicas (diabetes mellitus, hipertensión arterial, dislipemia, síndrome de apnea obstructiva del sueño y el síndrome metabólico) como también, al éxito o fracaso en función de la pérdida del exceso de peso medido a

los 3 y a los 6 meses. Para seleccionar el número de componentes se siguió el criterio de Kaiser; se utilizaron aquellos componentes principales con valores propios mayor de uno y que explicaran la mayor proporción de la variación de los datos. A continuación, se muestran los resultados del análisis Permutacional Multivariado de la Varianza (PERMANOVA) en la Tabla 31.

	<i>Filo</i>	<i>Género</i>
Diabetes mellitus	0,287	0,399
Hipertensión arterial	0,187	0,541
Dilipemia	0,631	0,912
SAOS	<b>0,017</b>	0,129
Síndrome metabólico	0,194	0,152
Éxito mes 3	0,058	0,082
Éxito mes 6	0,238	0,138

**Tabla 31.** Análisis Permutacional Multivariado de Varianza (PERMANOVA) de los fillos y géneros en función de las variables del estudio. Éxito: > 50% EPP.

No se encontraron asociaciones entre la composición microbiana en función de si los pacientes presentaban diabetes mellitus, hipertensión arterial, dislipemia o síndrome metabólico. Se observaron diferencias significativas en la microbiota en función de la presencia o no de síndrome de apnea obstructiva crónica (SAOS) (PERMANOVA = 0.017). El análisis de componentes principales mostró asociaciones entre la composición microbiana en función de si los pacientes habían reducido o no con éxito, su exceso de peso en el mes (Figura 33), con tendencia a la significación estadística (PERMANOVA = 0.058) (Tabla 31).

Los componentes PC1 y PC2 representaron el 42,8 % de la variación de los datos (análisis de componentes de los fillos). El primer componente principal presentó asociaciones con Proteobacteria, Verrucomicrobia y Bacteroidetes y asociaciones negativas, principalmente con Firmicutes, mientras que el segundo componente principal presentó asociaciones positivas con Proteobacteria y Verrucomicrobia y asociaciones negativas con Bacteroidetes y Synergistetes (Figura 33 y 34).



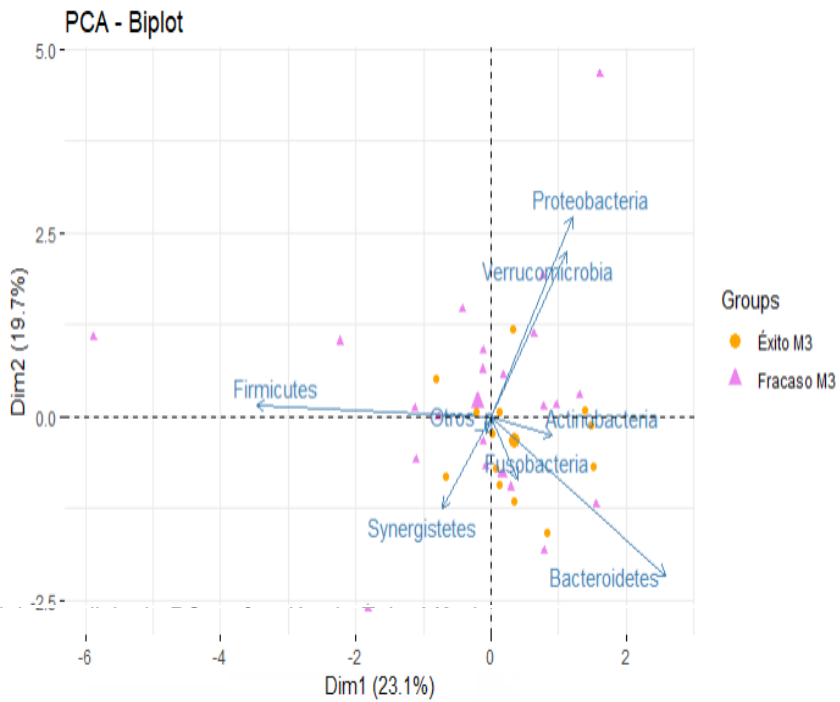


Figura 34. Análisis de Componentes Principales de los diferentes filos en función de éxito mes3

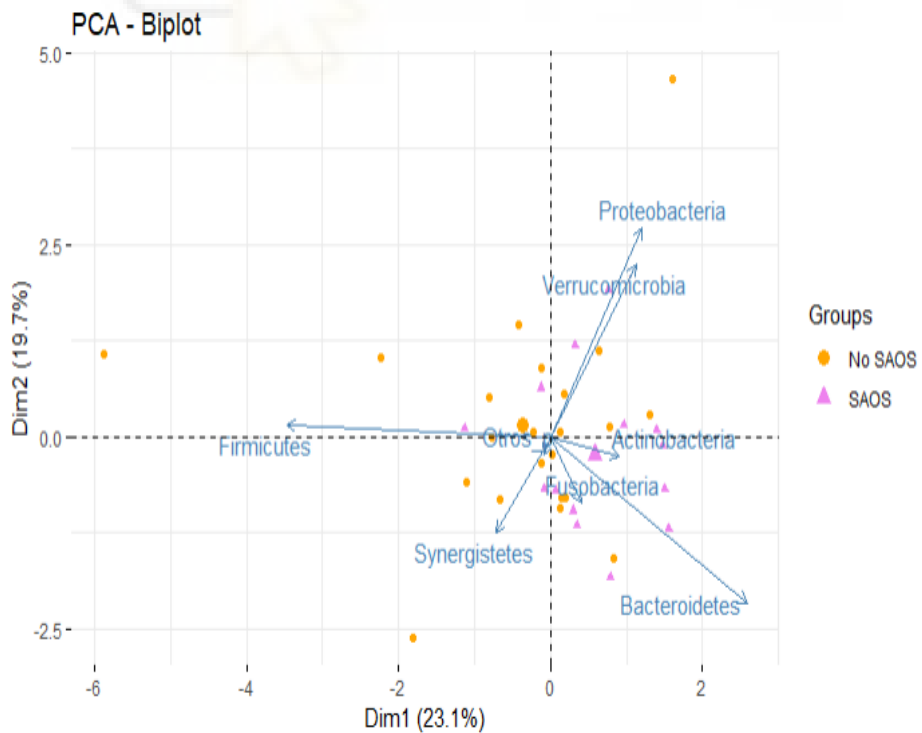


Figura 35. Análisis de Componentes Principales de los diferentes filos en pacientes con SAOS y sin SAOS.

A nivel de género no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el análisis multivariante (Tabla 31). En el PCA de los géneros, los componentes PC1 y PC2 representaron el 16,9 % de la variación de los datos. En la Figura 42 se observa el PCA de los géneros encontrados en función del síndrome metabólico; aunque no hubo asociación estadística (PERMANOVA=0,152), los pacientes con síndrome metabólico (SM) mostraron un perfil microbiano similar tal y como se observa en el cluster que aparece en la Figura 35.

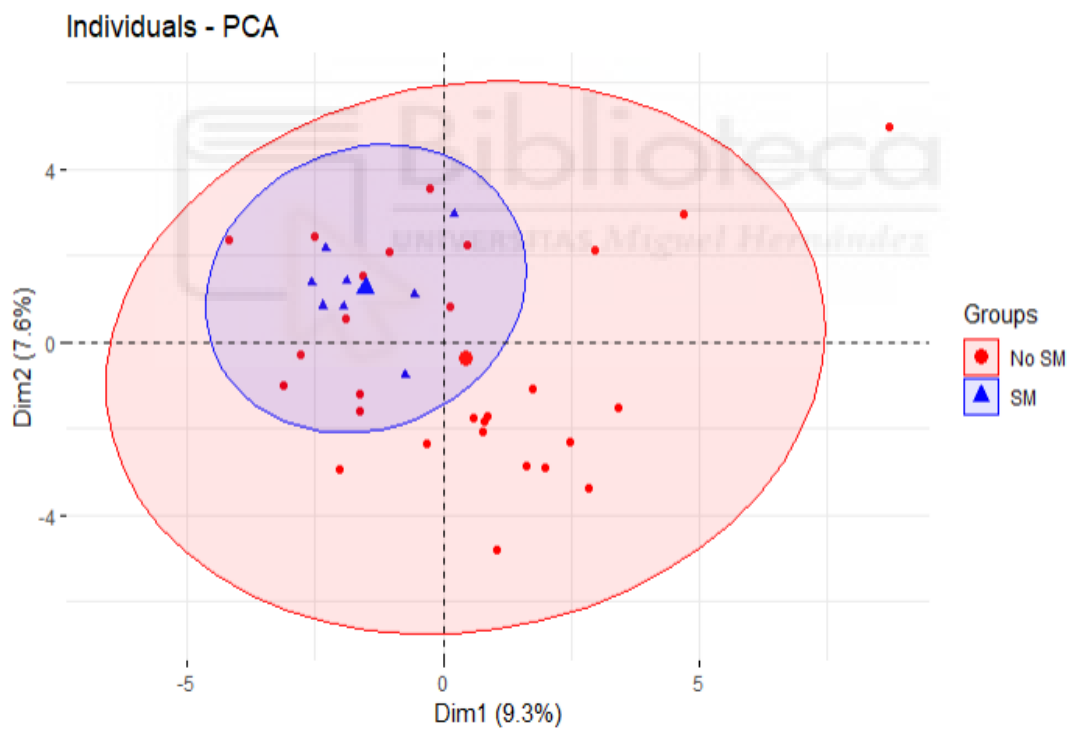


Figura 36. PCA de los géneros en función de la presencia o no de síndrome metabólico.

#### 4.10. Tolerancia alimentaria tras GVL

Una cohorte de 65 pacientes de la totalidad de la muestra fue incluida en este análisis. La mediana de edad fue de  $46 \pm 14$  años. Cuarenta y tres (66%) pacientes fueron mujeres, y el IMC medio fue de  $44 \pm 7,1$  kg/m<sup>2</sup>. Durante el seguimiento postoperatorio, el cuestionario se completó en los meses 1,3,6, 9 y 12 por 41 (64%), 44 (67%), 41 (63%) y 39 (60%) pacientes respectivamente. Los valores obtenidos de mediana (Me) y de probabilidad de tolerancia oral de cada tipo de alimento después de aplicar el CLOM se detallan en la Tabla 4.21. Aproximadamente una quinta parte (22%) de los pacientes admitió haber consumido alguna bebida o alimento no recomendable durante el seguimiento. Los scores de tolerancia a los diferentes alimentos se encuentran detallados en la Tabla 32.

Los líquidos fueron generalmente bien tolerados. El caldo, las infusiones y los zumos fueron las bebidas mejor toleradas. El vino fue mal tolerado durante el periodo postoperatorio y las bebidas carbonatadas, no recomendadas para estos pacientes, presentaron la peor tolerancia.

Entre las carnes, el pollo, el pavo, el conejo y la carne picada fueron bien toleradas. El cordero, la ternera y especialmente el cerdo fueron pobremente toleradas durante el primer año de postoperatorio.

Todos los tipos de pescados fueron muy bien tolerados, especialmente el surimi y el pescado blanco. El atún en lata fue el único pescado que aparece solamente bien tolerado.

La tolerancia de los diferentes carbohidratos fue variable. Aunque los fideos fueron bien tolerados, otros tipos de pasta, como los macarrones, los espaguetis y el arroz, fueron peor tolerados a lo largo del primer año de postoperatorio. El pan blanco fue únicamente bien tolerado durante el primer año postoperatorio y el pan tostado presentó una mejoría durante ese periodo. Los picatostes y la rebanada de pan de molde fueron mal tolerados durante el primer año postoperatorio. La tolerancia a la avena fue mejorando gradualmente durante el periodo postoperatorio.

En lo concerniente a los productos lácteos, todas las clases de yogur, la leche desnatada, y el queso fresco fueron muy bien tolerados desde el principio. Sin

embargo, el queso fundido fue tolerado parcialmente, y tanto el queso en lonchas como el queso de untar fueron bien tolerados a partir del noveno mes. El queso curado presento una pobre tolerancia.

La tolerancia a los vegetales después de la GVL fue también heterogénea. Los champiñones, los calabacines, las acelgas y las judías verdes fueron bien tolerados durante el periodo postoperatorio. Las espinacas también fueron bastante bien toleradas. Las aceitunas fueron bien toleradas al inicio, pero la tolerancia de este alimento empeoró a partir del sexto mes y posteriormente. Los pimientos solo fueron parcialmente tolerados. Aunque la tolerancia al pepino, el tomate y la cebolla fue bastante buena al principio, se deterioró considerablemente después del sexto mes. La lechuga fue sin duda el vegetal peor tolerado. Entre las legumbres, las lentejas fueron las mejor toleradas. Las judías blancas fueron parcialmente toleradas al principio y su tolerancia mejoró ligeramente a partir del sexto mes. Los garbanzos fueron mal tolerados al principio, pero su tolerancia mejoró al final del primer año de postoperatorio.

Alimento	Mes 1	Mes 3	Mes 6	Mes 9	Mes 12
<b>Líquidos</b>					
Caldo	3,5 (3-4) (94)	3 (3-4) (94)	3 (3-4) (94)	3,5 (3-4) (94)	4 (3-4) (94)
Infusiones	3 (3-4) (90)	3 (2-3) (89)	3 (3-4) (89)	4 (3-4) (89)	3 (3-4) (89)
Café	3 (3-4) (79)	3 (2-3,8) (80)	3 (3-4) (82)	3 (3-4) (83)	3 (2-4) (84)
Zumo	3 (3-4) (91)	3 (3-4) (90)	3 (3-4) (89)	3 (3-4) (88)	3 (2,5-4) (87)
Agua	3 (2-4) (78)	3 (2-3) (78)	3 (2-3) (76)	3 (2-4) (76)	3 (2-4) (74)
<b>Carnes</b>					
Pollo	3 (2-3) (75)	3 (2-3) (75)	3 (2-4) (75)	3 (2-4) (75)	3 (2-4) (74)
Pavo	3 (2-3) (75)	3 (2-4) (75)	3 (2-4) (75)	3 (2-4) (75)	3 (2-4) (74)
Conejo	3 (1,8-3,3) (80)	3 (2-3) (78)	3 (1-3) (76)	3 (2-4) (73)	3 (2-3) (70)
Carne picada	3 (2-4) (80)	3 (2-3) (79)	3 (2-3) (76)	3 (2-4) (73)	3 (2-4) (70)
Cordero	3 (2-4) (57)	3 (1-3) (54)	3 (2-3) (49)	2 (1,5-3) (44)	2 (1,8-3) (39)
Ternera	3 (1,5-3,5) (40)	2 (2-3) (40)	3 (1-3) (39)	2 (2-3) (36)	3 (1,5-3) (36)
Cerdo	2,5 (2-3,8) (41)	3 (1-3) (39)	2 (1-3) (36)	2 (2-3) (32)	2 (2-3) (29)
<b>Pescados</b>					
Surimi	4 (2,3-4) (96)	3 (3-4) (94)	3 (2,3-4) (92)	3 (3-4) (90)	3 (3-4) (86)
Pescado blanco	3 (2,8-4) (87)	3 (3-4) (87)	3(2-4) (86)	4 (3-4) (85)	3,5 (2-4) (84)
Pescado azul	3 (2-4) (84)	3 (3-4) (83)	3 (2-3) (82)	3 (2-4) (80)	3 (2-4) (77)
Marisco	3 (2,5-4) (85)	3 (3-4) (84)	3 (3-4) (82)	3 (2-4) (80)	3 (3-4) (78)
Atún lata	3 (2-4) (67)	3 (3-4) (67)	3 (2-4) (68)	3 (2-4) (69)	3 (2-4) (69)
<b>Carbohidratos</b>					

Fideos	3 (2.5-3) (85)	3 (3-4) (83)	3 (3-4) (81)	3 (2-4) (79)	3 (2-3) (76)
Macarrón	2 (2-3) (64)	2 (2-3) (58)	2 (2-3) (48)	3 (2-3) (39)	2 (1-3) (30)
Espagueti	2 (2-3) (63)	3 (2-3) (57)	2 (2-3) (47)	2 (2-4) (37)	2 (1-3) (28)
Arroz	2,5 (2-3) (42)	2 (2-3) (41)	3 (2-3) (36)	2 (1-3) (36)	2 (1-3) (33)
Pan tostado	3 (2 – 3) (60)	3 (2-3,5) (64)	3 (2-3) (69)	3 (2-4) (74)	3 (3-4) (82)
Pan blanco	2,5 (1-3) (65)	3 (2-3) (64)	3 (1-3) (63)	3 (2-4) (61)	3 (2-3) (60)
Picatostes	3 (2-3) (45)	2 (2-3) (48)	2 (2-3) (52)	3 (2-3) (56)	3 (2-3) (60)
Pan molde	2 (1-3) (39)	2 (1-3) (39)	2 (1-3) (40)	2 (2-3) (40)	2 (1-3) (41)
avena	4 (3-4) (67)	3 (3-3) (63)	2 (2-3) (56)	2 (2-3) (48)	3 (2-3) (41)
<b>Productos lácteos</b>					
Yogur líquido	3 (3-4) (88)	3 (2,75-4) (86)	3 (2-4) (85)	3,5 (3-4) (82)	3 (2,5-4) (80)
Yogur	3 (3-4) (87)	3 (2-4) (86)	3 (3-4) (84)	3 (3-4) (82)	3 (2-4) (81)
Leche desnatada	3 (2,5-4) (86)	3 (2-4) (84)	3 (2-4) (82)	3 (2-4) (80)	3 (2-4) (78)
Queso fresco	3 (3-4) (91)	3 (3-4) (90)	3 (2-4) (89)	4 (3-4) (87)	3 (3-4) (86)
Queso untar	3 (0,75-4) (68)	2 (2-3) (68)	3 (2-4) (68)	3 (2-4) (69)	3 (2-3) (69)
<b>Vegetales</b>					
Champiñón	3 (2,5-3,5) (83)	3 (2-4) (83)	3 (3-4) (81)	3 (2-4) (80)	3 (2-4) (79)
Calabaza	3 (3-4) (75)	3 (2-3) (75)	3 (2-3) (76)	3 (2-4) (76)	3 (2-3,3) (77)
Calabacín	3 (3-4) (85)	3 (2,5-3) (85)	3 (2-4) (84)	3 (2-4) (83)	3 (2-4) (81)
acelga	3 (3-4) (84)	3 (2-3) (83)	3 (2-3) (80)	3 (2-3,5) (77)	3 (2-3) (73)
Judías verdes	3,5 (3-4) (78)	3 (2-3) (78)	3 (2-3) (77)	3 (2-4) (77)	3 (3-3,5) (77)
Espinaca	3 (3-4) (75)	3 (2-3) (74)	3 (2-3) (74)	3 (2-4) (73)	3 (2-4) (72)
Oliva	3 (3-4) (81)	3 (2,8-3) (78)	3 (2-3) (72)	2,5 (2-3) (66)	3(2-3) (59)
Tomate	3 (2-3,3) (63)	3 (2-3) (61)	3 (2-3) (58)	3 (2-3) (55)	2 (2-3) (52)
pimiento	3 (2-4) (66)	3 (2-3) (66)	3 (2-3) (65)	3 (2-4) (64)	3(2-3) (63)
pepino	3 (2-3,8) (64)	3 (2-3) (62)	2 (2-3) (57)	2 (2-3) (53)	3 (2-3) (48)
cebolla	3 (2-4) (63)	3 (2-3) (60)	2 (2-3) (55)	3 (2-3) (49)	2 (1,3-3) (44)
Apio	3 (3-3) (52)	2,5 (2-3) (54)	2 (2-3) (56)	3 (2-3) (58)	3 (2-3,8) (65)
Lechuga	3 (2-3) (50)	3 (2-3) (48)	2 (1-3) (46)	2 (1-3) (43)	2 (2-3) (41)
Lentejas	3 (3-3,8) (82)	3 (2,3-3,8) (81)	3 (2,8-3) (80)	3 (2-4) (78)	3 (2-3) (77)
Judías	3 (2-4) (59)	3 (2-3) (62)	3 (2-3) (65)	3 (2-4) (69)	3 (2-3) (72)
Garbanzos	3 (2,5-3,5) (57)	3 (2-3) (59)	3 (2-3) (63)	3 (2-3,5) (67)	3 (2-3) (70)

**Tabla 32.** Grado de tolerancia específica por alimentos.

Con estos resultados, se clasificó cada alimento específicamente de acuerdo al grado de tolerancia en: recomendables, recomendables con precaución y no recomendables (Tabla 33). Solo se recomendaron los alimentos validos para una dieta hipocalórica en pacientes intervenidos de obesidad mórbida.

	Recomendables	Recomendables con precaución	No recomendables
<b>Líquidos</b>	Caldo, agua, infusiones, café y zumos		Vino
<b>Carnes</b>	Pollo, pavo, carne picada, conejo		Cordero, ternera, cerdo
<b>Pescados</b>	Surimi, pescado blanco, pescado azul, marisco	Lata atún	
<b>Carbohidratos</b>	Fideos, pan tostado	Pan blanco	Espagueti, macarrones, arroz, picatostes, pan de molde, avena.
<b>Productos lácteos</b>	Yogur líquido, yogur, leche desnatada, queso fresco.	Queso fundido	Queso en lonchas, queso untar
<b>Vegetales</b>	Champiñón, calabaza, calabacín, acelga, judías verdes, espinacas, lentejas	Pimiento, olivas, judías*, garbanzos*	Pepino, cebolla, tomate, apio *, lechuga

**Tabla 33. Grado de recomendación por alimentos.** Recomendable, buena tolerancia con  $Me > 3$  y  $CLOM > 80$ . No recomendables, pobre tolerancia con  $Me < 2$  y mas de un periodo de seguimiento y  $CLOM < 60$  en mas de dos periodos del seguimiento. \* Recomendable con precaución a partir del noveno mes.







## ***V. Discusión***





## 5.1. Cambios ponderales y nutricionales tras la cirugía en función de la toma de probióticos

### 5.1.1 Efecto de toma de probióticos sobre variables antropométricas y clínicas

En nuestro estudio la administración de probióticos no ha demostrado aumentar la pérdida de peso tras la realización de una GVL. En el grupo de probióticos se logró una pérdida de exceso de peso de 66,3% a los 6 meses, mientras que en el grupo control se alcanzó una pérdida de exceso de peso de 62,7%, sin diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos. Nuestros resultados han sido similares a los descritos por Sherf-Dagan en su ensayo clínico aleatorizado donde se administraron probióticos frente a control durante 6 meses en pacientes sometidos a GVL (244). Estos resultados difieren de los obtenidos en los tres ensayos aleatorizados publicados previamente donde se comparó la administración de probióticos, pero tras la realización de un bypass gástrico. Este hecho diferencial sugiere que existe un factor asociado a la propia técnica quirúrgica más que a la administración de los probióticos. La GVL no conlleva los mismos cambios anatómicos ni de la microbiota tras la administración de probióticos que el bypass gástrico (245–247). Por tanto, el uso de la administración de probióticos en los pacientes sometidos a cualquier cirugía bariátrica no aporta siempre similares beneficios. Siendo probable que el tratamiento con probióticos no aporte ningún beneficio más allá de la influencia de la técnica de la GVL. Otro factor a tener en cuenta es la composición de los probióticos que podemos suministrar. Tanto el trabajo de Sherf-Dagan como en el nuestro, se utilizó un probiótico comercializado compuesto por múltiples especies. Ambos probióticos compartían el *Bifidobacterium bifidum* y diferían en la composición de los *Lactobacillus* (*L. acidophilus* vs *L. Rhamnosus*, *L. lactis*, *L. Casei*, *L. Paracasei*, *L. Plantarum*). La gran variabilidad en la metodología y diversidad en los probióticos utilizados en cada estudio hacen difícil realizar comparaciones y establecer conclusiones que aclaren el efecto de los probióticos (en concreto de las especies de *Lactobacillus*) en la regulación del peso de los pacientes con obesidad mórbida a los que se realiza una GVL. Las futuras investigaciones deben ir encaminadas a determinar qué técnicas quirúrgicas pueden beneficiarse de la administración de probióticos y establecer qué

composiciones serán las más adecuadas en cada caso, ya que existen múltiples compuestos disponibles y gran variedad en sus composiciones que hacen difícil establecer directrices generalizables.

No hemos encontrado en los pacientes de nuestra muestra ninguna correlación entre la toma de probióticos y la mejoría de la diabetes mellitus tras la realización de una GVL. En un estudio previo se afirmó que con la administración de la cepa probiótica *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis 420* se conseguía revertir la translocación bacteriana intestinal, responsable de la inflamación crónica que desencadena uno de los mecanismos conocidos de resistencia a la insulina y diabetes mellitus (211). En nuestro estudio, en los pacientes diabéticos del grupo GVL-Prob, no se observó este efecto beneficioso de los probióticos sobre la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus. No obstante, hay que tener en cuenta que las especies de probiótico utilizadas en nuestro estudio han sido diferentes y habría que diseñar nuevos estudios con especies similares para poder comparar sus resultados. Teniendo en cuenta los estudios publicados hasta ahora, los tratamientos con probióticos no pueden postularse como alternativas terapéuticas para el control de la microbiota intestinal por su impacto en el manejo de las enfermedades metabólicas asociadas (244).

Es conocido el efecto de los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) producidos por la microbiota intestinal sobre la HTA a través del sistema renina-angiotensina (248). Nuestros resultados no mostraron una correlación significativa entre la toma de probióticos y la mejoría de la HTA. Los mecanismos fisiopatológicos para el control de la tensión arterial son múltiples e incluyen la dieta, la actividad física, los factores genéticos y epigenéticos. Por tanto, en nuestro trabajo se habrían dado muchos cofactores que podrían explicar estos efectos beneficiosos en el control de la TA y hacer que la microbiota haya participado de una manera mucho más sutil. También puede influir el tamaño muestral necesario para que las diferencias fueran significativas.

Nuestro trabajo mostró una tendencia a disminuir la prevalencia de las dislipemias y el síndrome metabólico en el grupo GVL-Prob frente al grupo GVL-control. Existe evidencia publicada sobre los diferentes mecanismos por los que el uso de los probióticos consiguen disminuir la absorción de colesterol (249) y reducir la hipercolesterolemia y el síndrome metabólico. Posiblemente un insuficiente tamaño

muestral pueda haber influido en que no encontráramos una correlación positiva entre la toma de probióticos y la mejoría de las dislipemias y el síndrome metabólico.

En nuestro análisis no hemos podido demostrar que la administración de probióticos en pacientes sometidos a una GVL tenga un efecto beneficioso sobre el SAOS. Actualmente, no existe ninguna evidencia sobre el efecto beneficioso de los probióticos después de una GVL, aunque si hay estudios que sugieren un posible beneficio sobre la modificación de la microbiota para cambiar los efectos deletéreos de sus metabolitos sobre órganos diana inducidos por el SAOS (250).

### ***5.1.2 Efecto de la toma de probióticos sobre determinadas variables analíticas***

Los cambios observados en los parámetros analíticos y nutricionales de ambos grupos presentan una evolución muy similar a lo largo del seguimiento. Hubo una reducción en los niveles medios de glucosa y de HbA1c en ambos grupos sin diferencias entre ellos. El perfil lipídico en sangre presentó una disminución progresiva a lo largo del seguimiento en los niveles de triglicéridos y un aumento en los niveles de HCL-colesterol sin diferencias entre los dos grupos. Estos resultados son similares a los descritos por el único trabajo que analiza estas variables y donde se trató con probiótico frente a placebo a un grupo de 100 pacientes sometidos a una GVL (244), concluyendo que la administración de probióticos tras GVL no producía ninguna mejoría en los resultados de los niveles de colesterol, HDL colesterol, triglicéridos, glucosa y HgAc1. Por tanto, el beneficio en los parámetros analíticos de estos pacientes parece depender más de la técnica quirúrgica y de los cambios en la microbiota que ésta puede provocar en ella que de los cambios que los probióticos hayan desencadenado en el microbioma de los pacientes. De lo anterior podemos concluir que el uso rutinario de probióticos post GVL no está justificado.

En nuestro estudio se observó una asociación positiva entre la toma de probióticos y la preservación de la función renal a los 9 meses (3 meses tras finalizar los probióticos). Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) producidos por la microbiota intestinal en obesos actúa sobre la TA al provocar un aumento de la producción de renina (251). La administración de probióticos puede provocar cambios

en la microbiota que alteren esta sensibilidad del sistema renina angiotensina y sea responsable de este efecto protector.

Los valores medios del hematocrito no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos brazos del estudio. No obstante, los pacientes que tomaron los probióticos presentaron una pérdida leve de su hematocrito, mientras que el grupo control presentó un aumento progresivo de sus niveles medios. Este efecto contrario pudiera ser debido a otros factores de confusión que no han sido analizados en el presente estudio como complicaciones postoperatorias (hemorragia, fuga postoperatoria) o insuficiente ingesta de nutrientes por la propia GVL.

### **5.1.3. Efecto de toma de probióticos sobre parámetros nutricionales**

Los niveles medios de albúmina en sangre presentaron un aumento progresivo en todos los pacientes sin diferencias significativas entre los pacientes GVL-Prob y GVL. Ha sido descrito que la administración de *Lactobacillus plantarum* CECT 7315/7316 se asoció a un aumento de las proteínas totales y albúmina en sangre en pacientes de edad avanzada. El efecto beneficioso podría deberse a su contribución a normalizar y estabilizar la flora intestinal en estos pacientes. Esta conclusión está basada en un estudio sobre pacientes con una malnutrición por malabsorción del paciente anciano y no es comparable con nuestros pacientes que no presentaban ninguna malnutrición de base y además fueron sometidos a una cirugía de estómago (252). El aumento de los niveles de proteínas en sangre en nuestros pacientes puede deberse al aumento de la ingesta progresiva que se va dando a lo largo de los meses y que además consiste en un aporte hiperproteico debido a las condiciones de su dieta hipocalórica e hiperproteica para la pérdida de peso que se busca con la cirugía. Por tanto, la toma de probióticos no ha influido en la mejora de la absorción proteica a nivel intestinal.

Nuestros pacientes con obesidad mórbida presentaron frecuentemente un déficit de vit D. La relación alta firmicutes/bacteroidetes que se da en la obesidad, se asocia también con el déficit de vitamina D (13). Por otro lado, los niveles séricos basales de Vit D se correlacionan positivamente con la abundancia relativa de *Akkermansia* spp., Lo que coincide con nuestros resultados que muestran una

disminución en la abundancia relativa en la población basal de Akkermansia (Tabla 4.12). Esto justifica que todos los pacientes tengan un déficit de Vitamina D al inicio del tratamiento independientemente del grupo al que pertenezcan (253). La administración de vitamina D produce cambios beneficiosos en la microbiota intestinal, pero en cambio no hemos podido demostrar ningún beneficio en la administración de probióticos en el metabolismo del calcio y la vitamina D.

En un ensayo clínico donde se trató a pacientes intervenidos de bypass gástrico con probióticos durante 6 meses se logró un aumento en los niveles de vitamina B12 en el grupo de probióticos (245). En nuestro trabajo, los niveles de vitamina B12 presentaron un descenso progresivo en ambos grupos. Estos resultados tras la GVL pueden explicarse por la reducción gástrica asociada a la GVL que provoca una disminución en la capacidad de secreción del factor intrínseco necesario para la absorción de la vitamina B12 en el íleon distal. No hemos encontrado ningún otro trabajo donde se valoren los niveles postoperatorios de vitamina B12 tras la suplementación con probióticos tras realizar una GVL. Sin embargo, parece necesario tener un control más estricto sobre los niveles de vitamina B12 en este tipo de pacientes, dado que se comportan como en los pacientes que han sufrido una gastrectomía parcial o total por patología neoplásica. Es necesaria una monitorización de los niveles de B12 postoperatorios después de una GVL porque el uso de probióticos no va a disminuir este riesgo.

Encontramos una correlación significativa entre la toma de probióticos y un descenso en los niveles de ácido fólico en el mes 3 y el mes 6, coincidiendo con la toma de probióticos. Este efecto deletéreo se detuvo al finalizar la toma de probióticos, momento en el que ambos grupos presentan un aumento de sus niveles de ácido fólico sin diferencias estadísticamente significativas al final del ensayo en el mes 9. La deficiencia de B12 puede ocasionar deficiencia de ácido fólico, al producir atrapamiento de la forma metabólicamente inactiva (5- metil tetrahidrofolato) (254). Sin embargo, no encontramos ese déficit de a.fólico en el grupo control como debería suceder si este fuera el único factor responsable. La microbiota participa en la síntesis de determinadas vitaminas (B12, a.fólico, biotina) y nuestros resultados demuestran que la administración de nuestro probiótico ha provocado una malabsorción de ácido fólico. No hay trabajos previos que informen de este efecto y son necesarios estudios

que analicen el papel específico de las diferentes cepas incluidas en los probióticos disponibles y así poder personalizar la indicación de los probióticos para los pacientes con obesidad mórbida que van a ser sometidos a GVL.

#### **5.1.4. Análisis global de la Microbiota intestinal basal.**

En nuestro estudio hemos analizado la microbiota basal de ambos grupos, y comparado la biodiversidad y la composición microbiana entre los sujetos del grupo de intervención y del grupo control. Al no encontrar diferencias estadísticas significativas, ni a nivel de filo ni de género entre los dos grupos, se asumió que ambos grupos de pacientes eran comparables en cuanto a la microbiota basal. Con el conjunto de la población, se llevó a cabo un análisis descriptivo de la composición microbiana basal de todos los pacientes incluidos en el estudio.

En el modelo animal se ha observado un predominio en las muestras fecales de firmicutes frente al bacteroidetes. Por lo que se ha especulado que un aumento en el cociente Bacteroidetes/firmicutes podría estar relacionado con la delgadez, mientras que si el cociente se invertía, se podría pensar que el aumento en firmicutes se asociaba a la obesidad (191,255). Sin embargo, en los estudios realizados en humanos, no se ha podido demostrar esta misma asociación entre la pérdida de peso y la disminución en Bacteroidetes. El trabajo publicado por Santacruz (256) encuentra un incremento en la proporción del filo bacteroidetes en las heces de pacientes adolescentes que siguen unas pautas dietéticas para pérdida de peso. En cambio, en el estudio de Duncan (257) no se pudo encontrar ninguna evidencia entre la proporción de Bacteroidetes en las muestras fecales de los pacientes obesos y su efecto en la pérdida de peso. Nuestro estudio muestra un predominio en la abundancia relativa de filos: *Bacteroidetes* (50,6%), *Firmicutes* (35,1%) y *Proteobacterias* (10,2%) sobre el resto de los filos. Aunque estos porcentajes son similares a los datos que aparecen en algunos trabajos (191,192,258,259), la realidad es que existe una gran discrepancia entre los distintos estudios publicados en relación con la composición microbiana tanto a nivel de filo como a nivel de género en la población obesa. De hecho, la relación Firmicutes / Bacteroidetes, ampliamente citada en la literatura científica, y que se postula como biomarcador de obesidad, ha sido recientemente

cuestionada como marcador, precisamente por los resultados contradictorios publicados. A diferencia de los estudios realizados en humanos, los estudios de microbiota realizados en animales tienden a mostrar resultados menos variables. Esta variación en los resultados en humanos está relacionada con la complejidad del estilo de vida y alimentación de los humanos. En los estudios con animales, la dieta se puede controlar con precisión, lo que excluye cualquier efecto por cambios en la dieta entre participantes. En los estudios con humanos, las dietas no se pueden controlar tan minuciosamente y esto puede agregar variabilidad y sesgos en los resultados. Por ejemplo, no es lo mismo una dieta vegetariana que una dieta omnívora y factores como los periodos de ayuno en las dietas, que influyen en la proporción de Bacteroidetes (191). Todos estos factores se pueden controlar en los estudios con animales, pero es prácticamente imposible controlarlos en una dieta en estudios con humanos. Esto hace que establecer un relación causal de un modelo determinado de predominio de filos asociado en el humano, sea muy difícil de demostrar.

#### **5.1.5. Cambios ponderales en función de la microbiota basal y relación con las variables clínicas.**

A continuación, realizamos un análisis la diversidad de esta microbiota basal y su posible impacto sobre la pérdida de peso, considerada como exitosa cuando el exceso de peso perdido (EPP) en el mes 3 y el mes 6 del seguimiento, fue > 50%. Nuestros resultados muestran una *menor diversidad* (disbiosis) en la microbiota basal en los pacientes que alcanzaron el EPP>50% tanto en el mes 3 como en el mes 6, alcanzando la significación estadística tanto a nivel de filo como de género. Estos datos contradicen que una mayor diversidad en nuestra microbiota se asocia con un estado más saludable (260), en tanto en cuanto aquellos pacientes que presentaron una mayor pérdida de peso y, por lo tanto, un EPP > 50% en los meses 3 y 6 de seguimiento, fueron los pacientes que basalmente presentaban una menor diversidad. La asociación de una disminución en la diversidad de la microbiota con un estado menos saludable ya fue observada por Kong y cols., en cuyo estudio demostraron que los pacientes que seguían una dieta compuesta por un alto consumo de dulces y bebidas azucaradas y un bajo consumo de fruta y yogures presentaba una disminución en la diversidad de



su microbiota, mientras que los que seguían una dieta más saludable presentaban un aumento en la diversidad de su microbiota (261). En nuestra opinión, esta asociación positiva entre la menor diversidad en la microbiota de nuestros pacientes con una mejor respuesta en la pérdida de peso después de la GVL podría deberse por una parte, a la variabilidad interindividual y además, a que en nuestro estudio toda la población estudiada son pacientes obesos y las comparaciones se realizaron entre dichos pacientes, por lo que los resultados no son comparables con los estudios en los que se han analizado las diferencias de biodiversidad microbiana entre la población obesa y no obesa. La disbiosis de la microbiota intestinal se ha asociado a una lista amplia de enfermedades metabólicas, neoplásicas, autoinmunes e incluso trastornos de la conducta. La base de datos Disbiome© (<https://disbiome.ugent.be>) (262), recoge estudios sobre la relación microbiota-enfermedad para más de 300 enfermedades diferentes, pero en la mayoría de ellas, la evidencia científica resulta insuficiente para distinguir si la disbiosis precede a la enfermedad o si la propia enfermedad y su tratamiento conduce a la disbiosis. Sin embargo, los modelos de trasplante de microbiota fecal sugirieron una cierta relación de causalidad entre la comunidad microbiana alterada y algunas enfermedades (263).

De la misma manera, realizamos un análisis de la composición microbiana intestinal basal y su posible impacto sobre la pérdida de peso en función de si había sido exitosa (>50% EPP), y encontramos que aquellos pacientes con una microbiota enriquecida con el filo *Bacteroidetes* presentaron una mejor respuesta en la pérdida de peso, alcanzando el EPP > 50% en el mes 3 y en el mes 6. Hasta la fecha, la evidencia científica muestra un patrón de aumento en *Firmicutes* y empobrecimiento en *Bacteroidetes* relacionado con el desarrollo de la obesidad (152,192,264–266). En base a esta evidencia, la asociación entre la abundancia relativa del filo *Bacteroidetes* y la mejor respuesta en la pérdida de peso tras la GVL, que muestran nuestros resultados, nos llevan a plantear la hipótesis de que, entre los pacientes obesos, aquellos con un perfil microbiano similar al del paciente delgado (predominio de *Bacteroidetes*) responderían mejor (mayor pérdida de peso), al estar basalmente predispuestos a ello, por presentar una determinada microbiota. Además, la microbiota puede influir en la adiposidad del huésped a través de la extracción de la energía de la dieta, que es mayor cuanto mayor es el predominio del filo *Firmicutes* (191).

En el análisis taxonómico a nivel de género, hemos identificado 70 géneros bacterianos en las muestras de heces analizadas. Encontramos que algunos de estos géneros se asociaron significativamente con el éxito o fracaso respecto a la pérdida de peso; mientras que los pacientes con un mayor predominio basal de *Gemmiger* y *Butyricoccus* (filo Firmicutes), y *Campylobacter* y *Acidaminococcus* no alcanzaron el EPP > 50% éxito en el mes 3 y el mes 6, respectivamente; los pacientes con microbiota basal enriquecida en *Fusicatenibacter* alcanzaron el 50% del EPP en el mes 6.

Son varios los trabajos que sugieren correlaciones entre el índice de masa corporal y la presencia de determinadas bacterias intestinales y que se refieren a éstos como biomarcadores microbianos relacionados con la obesidad (265,267). En nuestro caso, nuestros resultados nos muestran posibles perfiles de microbiota basal asociados con la pérdida o no de peso tras una GVL. No obstante, estos resultados habría que confirmarlos con estudios más amplios con tamaños muestrales mayores y en ese caso, se podría plantear modificar la microbiota basal de estos pacientes mediante el uso de probióticos en el periodo preoperatorio para ayudar a favorecer la pérdida de peso.

Al analizar las posibles asociaciones de la microbiota con las variables clínicas, observamos un predominio basal del género *Dorea* en los pacientes con DM. Cabe destacar en relación con este resultado que algunos trabajos ya han mostrado una asociación entre la presencia de *Dorea* y el estado prediabético y la diabetes mellitus (268,269). Por otra parte, también encontramos *Ruminococcus2* aumentado en pacientes con HTA y síndrome metabólico. Respecto a este resultado hay que destacar que si bien, *Ruminococcus spp*, al igual que otras bacterias productoras de butirato, ha sido relacionada inversamente con diferentes marcadores de inflamación de bajo grado, este incremento que hemos observado en pacientes con SM, ya había sido descrito dentro de este género, en un estudio realizado en mujeres en el que se mostró un incremento de *Ruminococcus bromii* y *R. obeum* en mujeres obesas con SM frente a mujeres obesas sin SM y a mujeres no obesas (270). Sin embargo, y con la limitación intrínseca metodológica respecto a la asignación taxonómica en nuestro trabajo (no supera el nivel de género), desconocemos si se trata de las mismas especies bacterianas.

Siguiendo con las asociaciones significativas encontradas en nuestro estudio con relación al SM, también destaca, por un lado, la mayor abundancia relativa de *Parabacteroides* en pacientes con SM, género que en algunos trabajos lo han señalado como marcador clínico potencial de obesidad (265,267) y por otro, la menor abundancia relativa de *Faecalibacterium spp.* en los pacientes con SM. *Faecalibacterium spp.* son otras de las bacterias productoras de butirato relacionadas con propiedades antiinflamatorias. Concretamente, la abundancia de la especie *Faecalibacterium prausnitzii* está asociada negativamente con biomarcadores de inflamación antes y después de una cirugía de Bypass gástrico (193), lo que sitúa a esta especie bacteriana como un marcador de salud intestinal.

Finalmente, realizamos el análisis multivariante para evaluar la asociación entre la microbiota basal de nuestros pacientes y las variables analizadas. A nivel de filo, nuestro estudio muestra una asociación estadísticamente significativa entre la composición microbiana y la presencia o no de SAOS. La asociación entre la presencia de un estado de disbiosis en la microbiota intestinal y el SAOS está ampliamente estudiada en modelo animal (271). Un aumento de Firmicutes con disminución de Bacteroidetes explica el estado de disbiosis en el ratón con SAOS. Este estado de disbiosis implica una mayor abundancia de degradadores de mucina y bacterias productoras de Lipopolisacáridos (LPS), que pasan a torrente circulatorio y como resultado provocan un estado inflamatorio de bajo grado responsable del desarrollo de la resistencia periférica a la insulina, la diabetes mellitus, la obesidad y la hipertensión arterial. Esta asociación entre un aumento de LPS en sangre y SAOS también se ha demostrado en humanos (271,272) y parece independiente del aumento de IMC.

Además, hemos observado un perfil de microbiota a nivel de filo asociado al éxito en la pérdida de peso en el mes 3 con un enriquecimiento en Bacteroidetes, rozando la significación estadística y confirmando el resultado obtenido en el análisis univariante donde los pacientes con una microbiota intestinal basal con Bacteroidetes se asociaba a una mayor pérdida de peso en el mes 3. No hemos encontrado estudios previos que hayan establecido una asociación entre un perfil microbiano concreto en el paciente obeso y su relación con la pérdida de peso tras una GVL.

Por último, y aunque no se alcanzó la significación con el análisis de PERMANOVA, observamos a nivel de género, un perfil microbiano específico en el paciente con obesidad mórbida, en función de si presentan o no síndrome metabólico. Para confirmar estos resultados y definir con exactitud un perfil microbiano concreto, sería necesario realizar PCR cuantitativas específicas de los géneros posiblemente asociados al síndrome metabólico.

## **5.2 Tolerancia a distintos grupos de alimentos a lo largo del primer año del postoperatorio**

En nuestro estudio, la cohorte que analizó la tolerancia oral a los diferentes tipos de alimentos tras la GVL nos ha permitido clasificar los 44 alimentos específicos que pueden ser considerados en una dieta hipocalórica en función de su tolerancia oral durante el primer año postoperatorio y el grado de recomendación proporcionado para cada uno de ellos. No existe, hasta la fecha, ningún estudio previo que analice esta cantidad de alimentos y tan en detalle tras la GVL.

Nuestro estudio ha distinguido los diferentes grados de tolerancia entre los diferentes tipos de carnes. La mala tolerancia a la carne roja durante el primer año postoperatorio ya ha sido referenciada en otros estudios (102,273), y ha sido confirmado en nuestros pacientes; por tanto, este tipo de carne debe ser evitada. Nuestros resultados también confirman la buena tolerancia al pollo en concordancia con lo publicado en otros estudios (102). Además, el pavo, la carne picada y el conejo pueden ser también recomendados y estos pueden ser interesantes productos cárnicos para mantener una apropiada ingesta proteica. Exceptuando el atún en lata, el resto de los pescados pueden ser recomendados, confirmando los resultados de estudios previos (102,273). Así, el pescado es un interesante complemento nutricional para garantizar una buena ingesta de proteínas tras una GVL. En un estudio que valoró la tolerancia al pollo y al pescado tras la GVL, el Bypass gástrico laparoscópico (BPG) y la banda gástrica, la GVL logró la mejor tolerancia en ambos alimentos (273).

Nuestros resultados muestran un pobre grado de tolerancia en los carbohidratos durante el primer año de postoperatorio, por lo que no son

recomendables. Entre los panes, solo el pan tostado puede ser recomendado a partir del sexto mes en adelante, y el pan blanco podría ser recomendado con precaución. A excepción de los fideos, la mayoría de los tipos de pasta deberían ser evitados. La buena tolerancia de los fideos puede ser en parte atribuido a hecho de son cocinados con caldo. Dos estudios previos analizaron la tolerancia al pan, la pasta y el arroz tras una GVL (102,273). Aunque ambos estudios informaron sobre la dificultad en la tolerancia al pan, mostraron discrepancia con respecto a la tolerancia en la pasta; sin embargo, en estos estudios faltaba un análisis detallado de los diferentes tipos de pan y de pasta. Finalmente, aunque el arroz fue tolerado con cierta dificultad en estos estudios, fue mucho mejor tolerado que en nuestro estudio. Estas diferencias podrían depender de si el arroz es cocinado en caldo o con otros alimentos.

Los productos lácteos bajos en grasas son una buena fuente de proteínas de alta calidad en una dieta saludable, y el queso y el yogurt son recomendados en una dieta mediterránea (274), no habiendo estudios previos sobre la tolerancia oral a los productos lácteos tras la GVL. En nuestro trabajo, todos los tipos de yogures y la leche desnatada fueron bastante bien tolerados desde el principio; estos alimentos pueden ser recomendados con un alto grado de confianza. Sin embargo, la tolerancia a los quesos fue heterogénea. El queso fresco es el único que puede ser recomendado con seguridad, mientras que el queso en lonchas deber ser recomendado sólo con cautela.

La tolerancia a las verduras fue la más heterogénea. De acuerdo con nuestro trabajo, algunos verduras como los champiñones, el calabacín, la calabaza, las acelgas, las judías verdes e incluso las espinacas, que generalmente se cocinan en agua hervida, pueden ser recomendadas. Por el contrario, otras verduras como el pepino, la cebolla, el tomate, el apio y especialmente la lechuga, que generalmente se comen crudas en ensalada, no deben recomendarse durante el primer año de postoperatorio. Sorprendentemente la tolerancia a las aceitunas fue buena al principio, pero empeoró gradualmente durante el periodo postoperatorio. Dos estudios previos han evaluado la tolerancia a la ensalada y las verduras tras la GVL (102,273). Ambos informaron que la ensalada fue tolerada con alguna dificultad durante los primeros seis meses, mejorando ligeramente después. Por el contrario, las verduras fueron bien toleradas desde el principio en uno de los estudios (102), aunque en el otro trabajo presentaron una peor tolerancia durante los primeros seis meses, mejorando solo ligeramente

posteriormente (273). Finalmente, es de resaltar que, dentro de las legumbres, con alto contenido proteico, solo las lentejas pueden ser recomendadas desde el principio; en contraste con las judías y los garbanzos que podrían ser recomendadas con cautela a partir del noveno mes.

Algunos estudios han evaluado la tolerancia oral después de los procedimientos quirúrgicos de cirugía bariátrica, aplicando el cuestionario de Suter (102,242,273). En general, estos estudios describieron que la tolerancia oral tras GVL y BPG fue significativamente mejor que después de la banda gástrica. Es reseñable que algunos de estos estudios mostraron una mejora progresiva desde el primer al quinto año postoperatorio, incluso con los alimentos peor tolerados (104,275). Nuestro trabajo se centró en el primer año postoperatorio, durante el cual la tolerancia a diferentes alimentos es más cambiante. Finalmente, se ha mostrado una ligera disminución en la albúmina sérica y algunas deficiencias de micronutrientes en suero que afectan particularmente al hierro, la vitamina B12, B6 y ácido fólico después de una GVL (276). No obstante, el análisis de la calidad nutricional de una dieta basada en los alimentos recomendados estaba más allá del alcance de nuestro estudio.

### **5.3 Aportaciones a la práctica clínica**

Nuestros resultados nos llevan a plantear como herramienta terapéutica en el manejo de estos pacientes, la posibilidad de administrar de forma prequirúrgica un probiótico específico para la obesidad, basado en el tratamiento individualizado del paciente, en el contexto de la Medicina de Precisión, en el que no sería adecuado administrar probióticos a los pacientes sino un determinado probiótico a unos pacientes y otro distinto a otros, en base a las características individuales de la microbiota intestinal, con el objeto de favorecer la pérdida de peso y mejorar el perfil nutricional de estos pacientes en el postoperatorio.

Además, nuestro estudio proporciona información detallada sobre alimentos específicos con respecto a su grado de tolerancia después de una GVL. Esta información puede ser útil en el seguimiento de los pacientes sometidos a esta técnica restrictiva durante el primer año de postoperatorio.

#### **5.4 Limitaciones del estudio**

La principal limitación de nuestro estudio ha sido el conseguir subvención económica para analizar la microbiota de la totalidad de las muestras recogidas. Gracias a la obtención de la beca de la Sociedad Española de cirugía de la Obesidad y enfermedades metabólicas (SECO) dotada en 7000 euros, pudimos analizar la composición microbiana de las muestras basales de un número limitado de los pacientes incluidos en el ensayo clínico. Quedando para futuros estudios el análisis del resto de muestras que permanecen en congelación del resto de meses de seguimiento. Con el análisis de las muestras basales hemos podido hacer un primer análisis descriptivo de la microbiota basal y ver sus asociaciones con las diferentes variables clínicas y analíticas.

Como contrapartida nuestro estudio ofrece fortaleza en el seguimiento de los pacientes, pues tan solo abandonaron el estudio 1 sujeto en el grupo de intervención y dos sujetos en el grupo control. Otra fortaleza de nuestro trabajo es que sólo participó un investigador en el seguimiento, recogida y análisis de las muestras con lo que disminuyó la posibilidad de pérdidas de muestras durante el seguimiento.

Otra limitación reseñable hace referencia al tamaño muestral que se determinó para el ensayo clínico y el tamaño muestral conseguido finalmente en número de muestras para analizar. Al no poder secuenciar la totalidad de las muestras recogidas, no se pudo completar el análisis estadístico previsto inicialmente y por lo que se decidió realizar este primer análisis de muestras basales. Tenemos previsto completar el análisis de todas las muestras recogidas en futuros trabajos, dado que vamos a disponer de medios más económicos para la secuenciación masiva de RNA y no hará falta un recurso económico tan elevado.

Finalmente, las diferencias estadísticamente significativas de algunos de los valores analíticos encontrados hacen necesario estudios de microbiota de corte longitudinal para confirmar estas asociaciones. Así, no se pudo establecer ni confirmar una relación de causalidad con nuestro estudio de microbiota de tipo transversal.

Nuestro trabajo sobre la tolerancia alimentaria analiza además de la mediana (Me), la probabilidad de tolerancia oral durante el periodo estudiado mediante el modelo CLOM. Los modelos de enlace acumulativos ordinales son una potente herramienta para ordenar los datos categóricos cuando las observaciones son tratadas como valores categóricos; de hecho, el modelo acumulativo ordinal son los modelos ordinales de clasificación más utilizados. En nuestra opinión, este análisis proporciona datos más fiables. Aunque el tamaño muestral de la cohorte podría considerarse modesto, creemos que la gran cantidad de información individual obtenida de estos pacientes puede ser útil para recomendar a los pacientes sobre alimentos específicos que se toleran mejor tras una GVL. En general, la información relativa a la tolerancia a determinados alimentos analizados debe ser adaptada para los pacientes con obesidad mórbida que viven en países o regiones con diferentes hábitos alimenticios.









## ***VI. Conclusiones***



## 6. CONCLUSIONES

---

1. La administración de probióticos en el postoperatorio de los pacientes con obesidad mórbida intervenidos de GVL no demostró un efecto beneficioso sobre la pérdida ponderal.

2. La administración de probióticos en el periodo postoperatorio de los pacientes con obesidad mórbida intervenidos de GVL no tuvo incidencia sobre las variables clínicas y analíticas estudiadas.

3. La existencia de un perfil microbiano con predominio de *Bacteroidetes* y empobrecimiento de *Firmicutes*, se asoció con una mayor pérdida tras GVL.

4. La existencia de una menor diversidad en la microbiota se asoció con una mayor pérdida de peso tras GVL.

5. Se observó una menor riqueza de la microbiota basal en pacientes con obesidad mórbida y síndrome metabólico asociado. Además, en estos pacientes se observó una asociación con *Ruminococcus* en la microbiota basal, lo que contradice los resultados de estudios previos considerándolo como un marcador de salud.

6. En los pacientes con obesidad mórbida encontramos una asociación significativa del género *Dorea* con la existencia de DM y del género *Parabacteroides* con el SM.

7. En los pacientes con obesidad mórbida encontramos una asociación inversa significativa entre la abundancia relativa de *Faecalibacterium spp* y el SM, pudiendo considerarle como marcador de salud.

8. En el análisis multivariante observamos un perfil microbiano específico en el paciente con obesidad mórbida con SM y una asociación significativa entre la composición de la microbiota basal y la presencia de SAOS.

9. Se consiguió establecer un mapa de tolerancia alimentaria en el primer año del postoperatorio de estos pacientes en el que se recomienda la ingesta de pollo, el pavo, el pescado, los productos lácteos en general y la mayoría de los vegetales y se desaconseja la carne roja, los carbohidratos, el queso curado y algunos vegetales crudos





## ***VII. Bibliografía***



## 7. BIBLIOGRAFIA

---

1. Brown PJ, Konner M. An anthropological perspective on obesity. *Ann N Y Acad Sci.* 1987;499:29-46.
2. The battle of the bulge: a history of obesity research (Libro, 2007) [WorldCat.org] [Internet]. [citado 22 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.worldcat.org/title/battle-of-the-bulge-a-history-of-obesity-research/oclc/233189436>
3. De sedibus, et causis morborum per anatomen indagatis libri quinque de MORGAGNI, Giovanni Battista: ex typographia Remondiniana, Venice Hardcover, 1st Edition - Milestones of Science Books [Internet]. [citado 22 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.iberlibro.com/primera-edicion/sedibus-causis-morborum-anatomen-indagatis-libri/13835344327/bd>
4. Vague J. A DETERMINANT FACTOR OF THE FORMS OF OBESITY. *Obes Res.* 1 de marzo de 1996;4(2):201-3.
5. Bray GA. Obesity: historical development of scientific and cultural ideas. *Int J Obes.* noviembre de 1990;14(11):909-26.
6. Marañón G. Gordos y flacos. 3º edición. Espasa Calpe; 1936.
7. Vague J. Sexual differentiation. A determinant factor of the forms of obesity. 1947. *Obes Res.* marzo de 1996;4(2):201-3.
8. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 24 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7984236>
9. calreceu.pdf [Internet]. [citado 24 de octubre de 2019]. Disponible en: <http://www.iceta.org/calreceu.pdf>
10. Barbany M, Foz M. Obesidad: concepto, clasificación y diagnóstico. *An Sist Sanit Navar.* 17 de febrero de 2009;25(0):7-16.
11. Purnell JQ. Definitions, Classification, and Epidemiology of Obesity. En: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, et al., editores. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279167/>



12. González CA, Pera G, Agudo A, Amiano P, Barricarte A, Beguiristain JM, et al. Factores asociados a la acumulación de grasa abdominal estimada mediante índices antropométricos. *Med Clínica*. 25 de marzo de 2000;114(11):401-6.
13. 5067.pdf [Internet]. [citado 24 de octubre de 2019]. Disponible en: <http://www.aulamedica.es/nutricionclinicamedicina/pdf/5067.pdf>
14. WHO | Obesity: preventing and managing the global epidemic [Internet]. WHO. [citado 24 de octubre de 2019]. Disponible en: [http://www.who.int/entity/nutrition/publications/obesity/WHO\\_TRS\\_894/en/index.html](http://www.who.int/entity/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/index.html)
15. Janssen I, Heymsfield SB, Allison DB, Kotler DP, Ross R. Body mass index and waist circumference independently contribute to the prediction of nonabdominal, abdominal subcutaneous, and visceral fat. *Am J Clin Nutr*. abril de 2002;75(4):683-8.
16. ConsensoSEEDO2016.pdf [Internet]. [citado 26 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.seedo.es/images/site/ConsensoSEEDO2016.pdf>
17. Farooqi IS, O'Rahilly S. Genetics of Obesity in Humans. *Endocr Rev*. 1 de diciembre de 2006;27(7):710-8.
18. Martínez-González MA, Martínez JA, Hu FB, Gibney MJ, Kearney J. Physical inactivity, sedentary lifestyle and obesity in the European Union. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes*. noviembre de 1999;23(11):1192-201.
19. Wee CC, McCarthy EP, Davis RB, Phillips RS. Physician counseling about exercise. *JAMA*. 27 de octubre de 1999;282(16):1583-8.
20. Jorm AF, Korten AE, Christensen H, Jacomb PA, Rodgers B, Parslow RA. Association of obesity with anxiety, depression and emotional well-being: a community survey. *Aust N Z J Public Health*. 2003;27(4):434-40.
21. Berman WH, Berman ER, Heymsfield S, Fauci M, Ackerman S. The effect of psychiatric disorders on weight loss in obesity clinic patients. *Behav Med Wash DC*. 1993;18(4):167-72.
22. Coady SA, Jaquish CE, Fabsitz RR, Larson MG, Cupples LA, Myers RH. Genetic variability of adult body mass index: a longitudinal assessment in framingham families. *Obes Res*. julio de 2002;10(7):675-81.
23. Lee JH, Reed DR, Price RA. Familial risk ratios for extreme obesity: implications for mapping human obesity genes. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study*

Obes. octubre de 1997;21(10):935-40.

24. Redman LM, Heilbronn LK, Martin CK, Alfonso A, Smith SR, Ravussin E, et al. Effect of calorie restriction with or without exercise on body composition and fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab.* marzo de 2007;92(3):865-72.

25. Ferrer FM, Casanueva FF, González CD. Modelos animales y experimentales de obesidad. *Obes Monogr Soc Esp Endocrinol.* 1994;119.

26. Moreno B, Monereo S. Obesidad. La epidemia del siglo XXI. 2º ed. Madrid: Ediciones Díaz Santos. En: *Obesidad La epidemia del Siglo XXI.* Ediciones Díaz de Santos; 2000. p. 70-9.

27. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, et al. A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science.* 11 de mayo de 2007;316(5826):889-94.

28. Smemo S, Tena JJ, Kim K-H, Gamazon ER, Sakabe NJ, Gómez-Marín C, et al. Obesity-associated variants within *FTO* form long-range functional connections with *IRX3*. *Nature.* marzo de 2014;507(7492):371-5.

29. Rosenbloom KR, Dreszer TR, Long JC, Malladi VS, Sloan CA, Raney BJ, et al. ENCODE whole-genome data in the UCSC Genome Browser: update 2012. *Nucleic Acids Res.* enero de 2012;40(Database issue):D912-917.

30. WHO | Global Health Observatory (GHO) data [Internet]. WHO. [citado 29 de octubre de 2019]. Disponible en: <http://www.who.int/gho/en/>

31. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *The Lancet.* abril de 2016;387(10026):1377-96.

32. Canoy D, Buchan I. Challenges in obesity epidemiology. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* marzo de 2007;8 Suppl 1:1-11.

33. Homepage | World Obesity Federation [Internet]. [citado 29 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www.worldobesity.org/>

34. Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. *JAMA.* 1 de febrero de 2012;307(5):491-7.

35. 2019ObesityReportFINAL-1.pdf [Internet]. [citado 2 de noviembre de 2019].

Disponible en: <https://www.tfah.org/wp-content/uploads/2019/09/2019ObesityReportFINAL-1.pdf>

36. Obesity-Update-2017.pdf [Internet]. [citado 2 de noviembre de 2019].

Disponible en: <http://www.oecd.org/health/health-systems/Obesity-Update-2017.pdf>

37. Aranceta-Bartrina J, Pérez-Rodrigo C, Alberdi-Aresti G, Ramos-Carrera N, Lázaro-Masedo S. Prevalencia de obesidad general y obesidad abdominal en la población adulta española (25–64 años) 2014–2015: estudio ENPE. *Rev Esp Cardiol.* junio de 2016;69(6):579-87.

38. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health.* 25 de marzo de 2009;9:88.

39. Mafong DD, Henry RR. Exenatide as a treatment for diabetes and obesity: implications for cardiovascular risk reduction. *Curr Atheroscler Rep.* febrero de 2008;10(1):55-60.

40. beta-cell failure in diabetes and preservation by clinical treatment - Buscar con Google [Internet]. [citado 2 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=beta-cell+failure+in+diabetes+and+preservation+by+clinical+treatment&oq=beta-cell+falure+in+diabetes+an&aqs=chrome.1.69i57j0l5.8966j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

41. Manco M, Putignani L, Bottazzo GF. Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. *Endocr Rev.* diciembre de 2010;31(6):817-44.

42. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatol Baltim Md.* mayo de 2003;37(5):1202-19.

43. Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM Int J Med.* febrero de 2010;103(2):71-83.

44. Wree A, Kahraman A, Gerken G, Canbay A. Obesity affects the liver - the link between adipocytes and hepatocytes. *Digestion.* 2011;83(1-2):124-33.

45. Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PWF, Benjamin EJ, Larson MG, et al.

Obesity and the Risk of Heart Failure. *N Engl J Med.* 1 de agosto de 2002;347(5):305-13.

46. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation.* 14 de febrero de 2006;113(6):898-918.

47. Sironi AM, Gastaldelli A, Mari A, Ciociaro D, Positano V, Postano V, et al. Visceral fat in hypertension: influence on insulin resistance and beta-cell function. *Hypertens Dallas Tex 1979.* agosto de 2004;44(2):127-33.

48. Brown CD, Higgins M, Donato KA, Rohde FC, Garrison R, Obarzanek E, et al. Body mass index and the prevalence of hypertension and dyslipidemia. *Obes Res.* diciembre de 2000;8(9):605-19.

49. 0120-0011-rfmun-65-s1-00025.pdf [Internet]. [citado 10 de noviembre de 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v65s1/0120-0011-rfmun-65-s1-00025.pdf>

50. pneuma-n-7-4.pdf [Internet]. [citado 10 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.sogapar.info/wp-content/uploads/2010/08/pneuma-n-7-4.pdf>

51. Ruhl CE, Everhart JE. Overweight, but not high dietary fat intake, increases risk of gastroesophageal reflux disease hospitalization: the NHANES I Epidemiologic Followup Study. First National Health and Nutrition Examination Survey. *Ann Epidemiol.* octubre de 1999;9(7):424-35.

52. Sise A, Friedenberg FK. A comprehensive review of gastroesophageal reflux disease and obesity. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* mayo de 2008;9(3):194-203.

53. Friedenberg FK, Xanthopoulos M, Foster GD, Richter JE. The association between gastroesophageal reflux disease and obesity. *Am J Gastroenterol.* agosto de 2008;103(8):2111-22.

54. Dittrick GW, Thompson JS, Campos D, Bremers D, Sudan D. Gallbladder Pathology in Morbid Obesity. *Obes Surg.* 1 de febrero de 2005;15(2):238-42.

55. Castillo-Martínez L, López-Alvarenga JC, Villa AR, González-Barranco J. Menstrual cycle length disorders in 18- to 40-y-old obese women. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif.* abril de 2003;19(4):317-20.

56. Luengo Fernández E, Ordóñez Rubio B, Bergua Martínez C, Laclaustra Gimeno M. Obesidad, dislipemia y síndrome metabólico. *Rev Esp Cardiol Supl.* enero de 2005;5(4):21D-29D.
57. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Nohr EA, Bonde JP, Sørensen TIA, Olsen J. Subfecundity in overweight and obese couples. *Hum Reprod Oxf Engl.* junio de 2007;22(6):1634-7.
58. Forga L, Petrina E, Barbería JJ. [Complications of obesity]. *An Sist Sanit Navar.* 2002;25 Suppl 1:117-26.
59. Anandacoomarasamy A, Caterson I, Sambrook P, Fransen M, March L. The impact of obesity on the musculoskeletal system. *Int J Obes* 2005. febrero de 2008;32(2):211-22.
60. Arthritis-Related Statistics | Data and Statistics | Arthritis | CDC [Internet]. 2018 [citado 10 de noviembre de 2019]. Disponible en: [https://www.cdc.gov/arthritis/data\\_statistics/arthritis-related-stats.htm](https://www.cdc.gov/arthritis/data_statistics/arthritis-related-stats.htm)
61. Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 10 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11169969>
62. Simon GE, Von Korff M, Saunders K, Miglioretti DL, Crane PK, van Belle G, et al. Association between obesity and psychiatric disorders in the US adult population. *Arch Gen Psychiatry.* julio de 2006;63(7):824-30.
63. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* julio de 1998;15(7):539-53.
64. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 16 de mayo de 2001;285(19):2486-97.
65. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J, IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet Lond Engl.* 24 de septiembre de 2005;366(9491):1059-62.

66. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 20 de octubre de 2009;120(16):1640-5.
67. Estrategia SEMERGEN, SEEDO y SEEN para la prevención y el tratamiento del sobrepeso y la obesidad en Atención Primaria | Medicina de Familia. SEMERGEN [Internet]. [citado 11 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-familia-semergen-40-articulo-estrategia-semergen-seedo-seen-prevencion-13113063>
68. Tsigos C, Hainer V, Basdevant A, Finer N, Fried M, Mathus-Vliegen E, et al. Management of obesity in adults: European clinical practice guidelines. *Obes Facts*. 2008;1(2):106-16.
69. Sjöström L, Lindroos A-K, Peltonen M, Torgerson J, Bouchard C, Carlsson B, et al. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med*. 23 de diciembre de 2004;351(26):2683-93.
70. E90711.pdf [Internet]. [citado 11 de noviembre de 2019]. Disponible en: [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0010/74746/E90711.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0010/74746/E90711.pdf)
71. prctgd\_c.pdf [Internet]. [citado 11 de noviembre de 2019]. Disponible en: [https://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/guidelines/prctgd\\_c.pdf](https://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/guidelines/prctgd_c.pdf)
72. Documento-Consenso-FESNAD-SEEDO-Oct2011.pdf [Internet]. [citado 11 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.seedo.es/images/site/documentacionConsenso/Documento-Consenso-FESNAD-SEEDO-Oct2011.pdf>
73. Hall KD. What is the Required Energy Deficit per unit Weight Loss? *Int J Obes* 2005. marzo de 2008;32(3):573-6.
74. Vilchez López FJ, Campos Martín C, Amaya García MJ, Sánchez Vera P, Pereira Cunill JL. Las dietas de muy bajo valor calórico (DMBVC) en el manejo clínico de la obesidad mórbida. *Nutr Hosp*. abril de 2013;28(2):275-85.
75. Leidy HJ, Tang M, Armstrong CLH, Martin CB, Campbell WW. The effects of consuming frequent, higher protein meals on appetite and satiety during weight loss

- in overweight/obese men. *Obes* Silver Spring Md. abril de 2011;19(4):818-24.
76. Documento-Consenso-FESNAD-SEEDO-Oct2011.pdf [Internet]. [citado 11 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.seedo.es/images/site/documentacionConsenso/Documento-Consenso-FESNAD-SEEDO-Oct2011.pdf>
77. Huang SC-C, Freitas TC, Amiel E, Everts B, Pearce EL, Lok JB, et al. Fatty acid oxidation is essential for egg production by the parasitic flatworm *Schistosoma mansoni*. *PLoS Pathog*. 2012;8(10):e1002996.
78. Mastellos N, Gunn LH, Felix LM, Car J, Majeed A. Transtheoretical model stages of change for dietary and physical exercise modification in weight loss management for overweight and obese adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 5 de febrero de 2014;(2):CD008066.
79. Ismail I, Keating SE, Baker MK, Johnson NA. A systematic review and meta-analysis of the effect of aerobic vs. resistance exercise training on visceral fat. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes*. enero de 2012;13(1):68-91.
80. Obesity in adults: Drug therapy - UpToDate [Internet]. [citado 12 de noviembre de 2019]. Disponible en: [https://www.uptodate.com/contents/obesity-in-adults-drug-therapy?search=medical%20treatment%20of%20obesity&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1#H1695730010](https://www.uptodate.com/contents/obesity-in-adults-drug-therapy?search=medical%20treatment%20of%20obesity&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H1695730010)
81. Kissane NA, Pratt JSA. Medical and surgical treatment of obesity. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. marzo de 2011;25(1):11-25.
82. Silveira Rodríguez MB, Gómez-Pan A, Carraro Casieri R. Nuevas perspectivas en el tratamiento de la obesidad: el aparato digestivo como órgano endocrino. *Med Clínica*. 2 de septiembre de 2006;126(8):300-5.
83. Torre AM de la. *Nutrición y metabolismo en trastornos de la conducta alimentaria*. Editorial Glosa, S.L.; 2004. 539 p.
84. Decaluwé V, Braet C. Prevalence of binge-eating disorder in obese children and adolescents seeking weight-loss treatment. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes*. marzo de 2003;27(3):404-9.
85. Recomendaciones de la SECO para la práctica de la cirugía bariátrica (Declaración de Salamanca). *Cir Esp*. 1 de mayo de 2004;75(5):312-4.
86. Buchwald H, Consensus Conference Panel. Consensus conference statement

bariatric surgery for morbid obesity: health implications for patients, health professionals, and third-party payers. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg.* junio de 2005;1(3):371-81.

87. final-3rd-ifso-report-21st-august-2017.pdf [Internet]. [citado 17 de noviembre de 2019]. Disponible en: <http://www.ifso.com/pdf/final-3rd-ifso-report-21st-august-2017.pdf>

88. Bowne WB, Julliard K, Castro AE, Shah P, Morgenthal CB, Ferzli GS. Laparoscopic gastric bypass is superior to adjustable gastric band in super morbidly obese patients: A prospective, comparative analysis. *Arch Surg Chic Ill 1960.* julio de 2006;141(7):683-9.

89. Lee CM, Cirangle PT, Jossart GH. Vertical gastrectomy for morbid obesity in 216 patients: report of two-year results. *Surg Endosc.* octubre de 2007;21(10):1810-6.

90. Juodeikis Ž, Brimas G. Long-term results after sleeve gastrectomy: A systematic review. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg.* abril de 2017;13(4):693-9.

91. Scopinaro N, Adami GF, Marinari GM, Gianetta E, Traverso E, Friedman D, et al. Biliopancreatic diversion. *World J Surg.* septiembre de 1998;22(9):936-46.

92. Hess DS, Hess DW. Biliopancreatic diversion with a duodenal switch. *Obes Surg.* junio de 1998;8(3):267-82.

93. Marceau P, Hould FS, Simard S, Lebel S, Bourque RA, Potvin M, et al. Biliopancreatic diversion with duodenal switch. *World J Surg.* septiembre de 1998;22(9):947-54.

94. Higa KD, Ho T, Boone KB. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass: technique and 3-year follow-up. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* diciembre de 2001;11(6):377-82.

95. Schneider BE, Villegas L, Blackburn GL, Mun EC, Critchlow JF, Jones DB. Laparoscopic gastric bypass surgery: outcomes. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* agosto de 2003;13(4):247-55.

96. Wu A, Tian J, Cao L, Gong F, Wu A, Dong G. Single-anastomosis duodeno-ileal bypass with sleeve gastrectomy (SADI-S) as a revisional surgery. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg.* 2018;14(11):1686-90.

97. Tate CM, Geliebter A. Intra-gastric Balloon Treatment for Obesity: Review of Recent Studies. *Adv Ther.* 2017;34(8):1859-75.

98. Gaggiotti G, Tack J, Garrido AB, Palau M, Cappelluti G, Di Matteo F. Adjustable



totally implantable intragastric prosthesis (ATIIP)-Endogast for treatment of morbid obesity: one-year follow-up of a multicenter prospective clinical survey. *Obes Surg.* julio de 2007;17(7):949-56.

99. Fogel R, De Fogel J, Bonilla Y, De La Fuente R. Clinical experience of transoral suturing for an endoluminal vertical gastroplasty: 1-year follow-up in 64 patients. *Gastrointest Endosc.* 1 de julio de 2008;68(1):51-8.

100. Rodriguez-Grunert L, Galvao Neto MP, Alamo M, Ramos AC, Baez PB, Tarnoff M. First human experience with endoscopically delivered and retrieved duodenal-jejunal bypass sleeve. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg.* febrero de 2008;4(1):55-9.

101. Progress in Implantable Gastric Stimulation: Summary of Results of the European Multi-Center Study | SpringerLink [Internet]. [citado 18 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF03342136>

102. Ramón JM, González CG, Dorcaratto D, Goday A, Benaiges D, González S, et al. [Quality of food intake after bariatric surgery: vertical gastrectomy versus gastric bypass]. *Cir Esp.* febrero de 2012;90(2):95-101.

103. Ruiz-Tovar J, Muñoz JL, Royo P, Duran M, Redondo E, Ramirez JM. Implementation of the Spanish ERAS program in bariatric surgery. *Minim Invasive Ther Allied Technol.* 2 de noviembre de 2018;27(6):365-72.

104. Overs SE, Freeman RA, Zarshenas N, Walton KL, Jorgensen JO. Food tolerance and gastrointestinal quality of life following three bariatric procedures: adjustable gastric banding, Roux-en-Y gastric bypass, and sleeve gastrectomy. *Obes Surg.* abril de 2012;22(4):536-43.

105. The vocabulary of microbiome research: a proposal | Microbiome | Full Text [Internet]. [citado 18 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://microbiomejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40168-015-0094-5>

106. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett C, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world. *Nature.* 18 de octubre de 2007;449(7164):804-10.

107. polymicrobial interactions impact on pathogenesis and human disease - Buscar con Google [Internet]. [citado 18 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=polymicrobial+interactions+impact+on+pathoge>

nesis+and+human+disease&oq=Polymicrobial+interactions&aqs=chrome.1.69i57j0l3.8156j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8

108. Rappé MS, Giovannoni SJ. The uncultured microbial majority. *Annu Rev Microbiol.* 2003;57:369-94.

109. Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR.* diciembre de 2004;68(4):669-85.

110. Wilson KH, Blichington RB. Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. *Appl Environ Microbiol.* julio de 1996;62(7):2273-8.

111. Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, et al. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science.* 20 de junio de 2008;320(5883):1647-51.

112. Scott K, Duncan SH, Flint H. Dietary fibre and the gut microbiota. *Nutr Bull.* 1 de septiembre de 2008;33:201-11.

113. Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, Gordon JI. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Transl Med.* 11 de noviembre de 2009;1(6):6ra14.

114. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature.* 22 de enero de 2009;457(7228):480-4.

115. high-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=high-fat+diet+determines+the+composition+of+the+murine+gut+microbiome+independently+of+obesity&oq=high-fat+diet+determines+the+composition&aqs=chrome.1.69i57j0.9340j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

116. Walker AW, Ince J, Duncan SH, Webster LM, Holtrop G, Ze X, et al. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *ISME J.* febrero de 2011;5(2):220-30.

117. De Palma G, Nadal I, Collado MC, Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects. *Br J Nutr.* octubre de 2009;102(8):1154-60.

118. diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=diet+drives+convergence+in+gut+microbiome+functions+across+mammalian+phylogeny+and+within+humans&oq=diet+drives+convergence+in+gut+micr&aqs=chrome.1.69i57j0.11079j1j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
119. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 7 de octubre de 2011;334(6052):105-8.
120. a vegan or vegetarian diet substantially alters the human colonic faecal microbiota - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=a+vegan+or+vegetarian+diet+substantially+alters+the+human+colonic+faecal+microbiota&oq=a+vegan+or+vegetarian+diet+substantially+alter&aqs=chrome.1.69i57j0j69i64l2.11983j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
121. Liszt K, Zwieler J, Handschur M, Hippe B, Thaler R, Haslberger AG. Characterization of bacteria, clostridia and Bacteroides in faeces of vegetarians using qPCR and PCR-DGGE fingerprinting. *Ann Nutr Metab*. 2009;54(4):253-7.
122. Sullivan A, Edlund C, Nord CE. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis*. septiembre de 2001;1(2):101-14.
123. long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=long-term+ecological+impacts+of+antibiotic+administration+on+the+human+intestinal+microbiota&oq=long-term+ecological+impacts+of+antibiotic+admi&aqs=chrome.1.69i57j0l2.9165j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
124. Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15 de marzo de 2011;108 Suppl 1:4554-61.
125. Thuny F, Richet H, Casalta J-P, Angelakis E, Habib G, Raoult D. Vancomycin treatment of infective endocarditis is linked with recently acquired obesity. *PloS One*.

10 de febrero de 2010;5(2):e9074.

126. Ajslev TA, Andersen CS, Gamborg M, Sørensen TIA, Jess T. Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: the role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics. *Int J Obes* 2005. abril de 2011;35(4):522-9.

127. antibiotics as part of the management of severe acute malnutrition - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=antibiotics+as+part+of+the+management+of+severe+acute+malnutrition&oq=antibiotics+as+part&aqs=chrome.1.69i57j0l5.9244j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

128. Bech-Nielsen GV, Hansen CHF, Hufeldt MR, Nielsen DS, Aasted B, Vogensen FK, et al. Manipulation of the gut microbiota in C57BL/6 mice changes glucose tolerance without affecting weight development and gut mucosal immunity. *Res Vet Sci*. 1 de junio de 2012;92(3):501-8.

129. Murphy EF, Cotter PD, Hogan A, O'Sullivan O, Joyce A, Fouhy F, et al. Divergent metabolic outcomes arising from targeted manipulation of the gut microbiota in diet-induced obesity. *Gut*. febrero de 2013;62(2):220-6.

130. Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the Bio-Breeding diabetes-prone rat. Is the gut flora involved in the developmen... - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16816951>

131. Hernández E, Bargiela R, Diez MS, Friedrichs A, Pérez-Cobas AE, Gosalbes MJ, et al. Functional consequences of microbial shifts in the human gastrointestinal tract linked to antibiotic treatment and obesity. *Gut Microbes*. agosto de 2013;4(4):306-15.

132. Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992 Suppl. septiembre de 2003;91(441):48-55.

133. genital flora during pregnancy - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=genital+flora+during+pregnancy&oq=genital+flora+during&aqs=chrome.1.69i57j0.3993j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

134. the development of the bacterial flora in normal neonates - Buscar con Google

[Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=the+development+of+the+bacterial+flora+in+normal+neonates&oq=the+development+of+bacterial+flora+in+normal+&aqs=chrome.1.69i57j0.15865j0j9&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

135. Grönlund M-M, Lehtonen O-P, Eerola E, Kero P. Fecal Microflora in Healthy Infants Born by Different Methods of Delivery: Permanent Changes in Intestinal Flora After Cesarean Delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* enero de 1999;28(1):19.

136. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* enero de 2000;30(1):61-7.

137. Kleessen B, Bunke H, Tovar K, Noack J, Sawatzki G. Influence of two infant formulas and human milk on the development of the faecal flora in newborn infants. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. diciembre de 1995;84(12):1347-56.

138. developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=developmental+microbial+ecology+of+the+neonatal+gastrointestinal+tract&oq=developmental+micr&aqs=chrome.1.69i57j0l5.6193j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

139. molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en:

<https://www.google.com/search?q=molecular+monitoring+of+succession+of+bacterial+communities+in+human+neonates&oq=molecular+monitoring+of+succe&aqs=chrome.1.69i57j0.11281j0j9&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

140. the commensal microflora of human milk new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=the+commensal+microflora+of+human+milk+new+perspectives+for+food+bacteriotherapy+and+probiotics&oq=the+commensal+microflora+of+human+milk&aqs=chrome.1.69i57j0.15000j0j9&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

141. the human oral microbiome - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=the+human+oral+microbiome&oq=the+human+oral+micro&aqs=chrome.1.69i57j0l5.4383j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
142. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 17 de enero de 2006;103(3):732-7.
143. Macy JM, Yu I, Caldwell C, Hungate RE. Reliable sampling method for analysis of the ecology of the human alimentary tract. *Appl Environ Microbiol*. enero de 1978;35(1):113-20.
144. helicobacter pylori and gastrointestinal tract adenocarcinomas - Buscar con Google [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=helicobacter+pylori+and+gastrointestinal+tract+adenocarcinomas&oq=helicobacter+pylori+and+gastrointestinal+tra&aqs=chrome.2.69i57j0l5.13988j1j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
145. Montalto M, D'Onofrio F, Gallo A, Cazzato A, Gasbarrini G. Intestinal microbiota and its functions. *Dig Liver Dis Suppl*. 1 de julio de 2009;3(2):30-4.
146. Croucher SC, Houston AP, Bayliss CE, Turner RJ. Bacterial Populations Associated with Different Regions of the Human Colon Wall. *Appl Environ Microbiol*. marzo de 1983;45(3):1025-33.
147. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science*. 10 de junio de 2005;308(5728):1635-8.
148. Stephen AM, Cummings JH. The microbial contribution to human faecal mass. *J Med Microbiol*. febrero de 1980;13(1):45-56.
149. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JH. Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol*. 26 de mayo de 1998;41(2):85-101.
150. Rubio MA, Ballesteros MD, Sánchez-Pernaute A, Torres A. *Manual de Obesidad Mórbida*. 2ª Edición.
151. Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Compositional and Functional Features of the Gastrointestinal Microbiome and Their Effects on Human Health. *Gastroenterology*. mayo de 2014;146(6):1449-58.

152. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 21 de diciembre de 2006;444(7122):1022-3.
153. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 12 de mayo de 2011;473(7346):174-80.
154. Bäckhed F, Fraser CM, Ringel Y, Sanders ME, Sartor RB, Sherman PM, et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host Microbe*. 15 de noviembre de 2012;12(5):611-22.
155. More than 9,000,000 unique genes in human gut bacterial community: estimating gene numbers inside a human body. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19562079>
156. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 20 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11157169>
157. Gibson PR, Moeller I, Kagelari O, Folino M, Young GP. Contrasting effects of butyrate on the expression of phenotypic markers of differentiation in neoplastic and non-neoplastic colonic epithelial cells in vitro. *J Gastroenterol Hepatol*. abril de 1992;7(2):165-72.
158. role of short-chain fatty acids in the prevention of colorectal cancer - Buscar con Google [Internet]. [citado 20 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=role+of+short-chain+fatty+acids+in+the+prevention+of+colorectal+cancer&oq=role+of+short-chain+fatty+acids+in+the+prevention+of&aqs=chrome.1.69i57j0.10433j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
159. Hentges DJ. *Human Intestinal Microflora in Health and Disease*. Academic Press; 2012. 587 p.
160. The role of intestinal bacteria in the causation and prevention of cancer: Modulation by diet and probiotics - ProQuest [Internet]. [citado 20 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://search.proquest.com/openview/1506762261cbed1ffa1bfa81639961ec/1?pq->

origsite=gscholar&cbl=36914

161. Macfarlane GT, Macfarlane S. Human colonic microbiota: ecology, physiology and metabolic potential of intestinal bacteria. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1997;222:3-9.
162. Hill MJ. Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. *Eur J Cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ ECP.* marzo de 1997;6 Suppl 1:S43-45.
163. Miyazawa E, Iwabuchi A, Yoshida T. Phytate breakdown and apparent absorption of phosphorus, calcium and magnesium in germfree and conventionalized rats. *Nutr Res.* 1 de abril de 1996;16(4):603-13.
164. Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon - Macfarlane - 1992 - *Journal of Applied Bacteriology* - Wiley Online Library [Internet]. [citado 20 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2672.1992.tb04882.x>
165. Bauer E, Williams BA, Smidt H, Verstegen MWA, Mosenthin R. Influence of the gastrointestinal microbiota on development of the immune system in young animals. *Curr Issues Intest Microbiol.* septiembre de 2006;7(2):35-51.
166. Brandtzaeg P. Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. *Scand J Immunol.* diciembre de 2009;70(6):505-15.
167. Yamanaka T, Helgeland L, Farstad IN, Fukushima H, Midtvedt T, Brandtzaeg P. Microbial colonization drives lymphocyte accumulation and differentiation in the follicle-associated epithelium of Peyer's patches. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 de enero de 2003;170(2):816-22.
168. Garrett WS, Gordon JI, Glimcher LH. Homeostasis and Inflammation in the Intestine. *Cell.* 19 de marzo de 2010;140(6):859-70.
169. Zak DE, Aderem A. Systems biology of innate immunity. *Immunol Rev.* enero de 2009;227(1):264-82.
170. Goldsmid JM, Leggat PA. The returned traveller with diarrhoea. *Aust Fam Physician.* mayo de 2007;36(5):322-7.
171. Ciarlet M, Estes MK. Interactions between rotavirus and gastrointestinal cells. *Curr Opin Microbiol.* agosto de 2001;4(4):435-41.
172. Bergogne-Bérézin E. Treatment and prevention of antibiotic associated



- diarrhea. *Int J Antimicrob Agents*. diciembre de 2000;16(4):521-6.
173. Malfetheriner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut*. junio de 2007;56(6):772-81.
174. Hopkin J. Mechanisms of enhanced prevalence of asthma and atopy in developed countries. *Curr Opin Immunol*. 1 de diciembre de 1997;9(6):788-92.
175. Camilleri M. Management of the irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. febrero de 2001;120(3):652-68.
176. Thornley JP, Jenkins D, Neal K, Wright T, Brough J, Spiller RC. Relationship of *Campylobacter* toxigenicity in vitro to the development of postinfectious irritable bowel syndrome. *J Infect Dis*. 1 de septiembre de 2001;184(5):606-9.
177. Nobaek S, Johansson ML, Molin G, Ahrné S, Jeppsson B. Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol*. mayo de 2000;95(5):1231-8.
178. Pimentel M, Chow EJ, Lin HC. Eradication of small intestinal bacterial overgrowth reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol*. diciembre de 2000;95(12):3503-6.
179. Hata K, Andoh A, Sato H, Araki Y, Tanaka M, Tsujikawa T, et al. Sequential changes in luminal microflora and mucosal cytokine expression during developing of colitis in HLA-B27/beta2-microglobulin transgenic rats. *Scand J Gastroenterol*. noviembre de 2001;36(11):1185-92.
180. Holgate ST. The epidemic of allergy and asthma. *Nature*. 25 de noviembre de 1999;402(6760 Suppl):B2-4.
181. Kirjavainen PV, Gibson GR. Healthy gut microflora and allergy: factors influencing development of the microbiota. *Ann Med*. agosto de 1999;31(4):288-92.
182. Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 7 de abril de 2001;357(9262):1076-9.
183. Greenwald P, Clifford CK, Milner JA. Diet and cancer prevention. *Eur J Cancer*. 1 de mayo de 2001;37(8):948-65.
184. Kim DH, Jin YH. Intestinal bacterial beta-glucuronidase activity of patients with colon cancer. *Arch Pharm Res*. diciembre de 2001;24(6):564-7.

185. Mortensen PB, Clausen MR. Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1996;216:132-48.
186. Rogers CJ, Prabhu KS, Vijay-Kumar M. The microbiome and obesity-an established risk for certain types of cancer. *Cancer J Sudbury Mass.* junio de 2014;20(3):176-80.
187. Mira-Pascual L, Cabrera-Rubio R, Ocon S, Costales P, Parra A, Suarez A, et al. Microbial mucosal colonic shifts associated with the development of colorectal cancer reveal the presence of different bacterial and archaeal biomarkers. *J Gastroenterol.* febrero de 2015;50(2):167-79.
188. Wong SH, Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* noviembre de 2019;16(11):690-704.
189. Wu N, Yang X, Zhang R, Li J, Xiao X, Hu Y, et al. Dysbiosis signature of fecal microbiota in colorectal cancer patients. *Microb Ecol.* agosto de 2013;66(2):462-70.
190. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2 de agosto de 2005;102(31):11070-5.
191. Ley RE. Obesity and the human microbiome. *Curr Opin Gastroenterol.* enero de 2010;26(1):5-11.
192. Armougom F, Henry M, Vialettes B, Raccach D, Raoult D. Monitoring Bacterial Community of Human Gut Microbiota Reveals an Increase in *Lactobacillus* in Obese Patients and Methanogens in Anorexic Patients. *PLoS One.* 23 de septiembre de 2009;4:e7125.
193. Furet J-P, Kong L-C, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot J-L, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes.* diciembre de 2010;59(12):3049-57.
194. Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr.* octubre de 2008;88(4):894-9.
195. Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii* | International

Journal of Obesity [Internet]. [citado 26 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/ijo2011153>

196. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Ab Wahab MS. Modulation of gut microbiota in the management of metabolic disorders: the prospects and challenges. *Int J Mol Sci*. 7 de marzo de 2014;15(3):4158-88.

197. Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 16 de enero de 2007;104(3):979-84.

198. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 21 de diciembre de 2006;444(7122):1027-31.

199. Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, Yu Y, et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 17 de febrero de 2009;106(7):2365-70.

200. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2 de noviembre de 2004;101(44):15718-23.

201. obesity and the human microbiome - Buscar con Google [Internet]. [citado 26 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=obesity+and+the+human+microbiome&aq=chrome.1.69i57j0l5.6352j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

202. Comparative genomics analysis of *Lactobacillus* species associated with weight gain or weight protection | Nutrition & Diabetes [Internet]. [citado 27 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nutd20146>

203. Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia*. octubre de 1998;41(10):1241-8.

204. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 3 de julio de 2006;116(7):1793-801.

205. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 14 de diciembre de 2006;444(7121):860-7.

206. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose

- control. *Nature*. 6 de junio de 2013;498(7452):99-103.
207. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes | *Nature* [Internet]. [citado 27 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nature11450>
208. Serino M, Fernández-Real JM, García-Fuentes E, Fuentes EG, Queipo-Ortuño M, Moreno-Navarrete JM, et al. The gut microbiota profile is associated with insulin action in humans. *Acta Diabetol*. octubre de 2013;50(5):753-61.
209. Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, Cardona F, Soriguer F, et al. Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study. *BMC Med*. 21 de febrero de 2013;11:46.
210. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FWJ, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*. 5 de febrero de 2010;5(2):e9085.
211. Amar J, Chabo C, Waget A, Klopp P, Vachoux C, Bermúdez-Humarán LG, et al. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol Med*. septiembre de 2011;3(9):559-72.
212. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*. noviembre de 2007;50(11):2374-83.
213. Amar J, Burcelin R, Ruidavets JB, Cani PD, Fauvel J, Alessi MC, et al. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am J Clin Nutr*. mayo de 2008;87(5):1219-23.
214. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. junio de 2008;57(6):1470-81.
215. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*. agosto de 2009;58(8):1091-103.

216. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. julio de 2007;56(7):1761-72.
217. Endotoxin increase after fat overload is related to postprandial hypertriglyceridemia in morbidly obese patients. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 27 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22394503>
218. Caricilli AM, Saad MJA. The Role of Gut Microbiota on Insulin Resistance. *Nutrients*. 12 de marzo de 2013;5(3):829-51.
219. Effect of probiotics *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* on gut-derived lipopolysaccharides and inflammatory cytokines: an in vitro study using a hum... - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 27 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23568206>
220. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance | Diabetes [Internet]. [citado 27 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://diabetes.diabetesjournals.org/content/56/7/1761>
221. Leber B, Spindelboeck W, Stadlbauer V. Infectious complications of acute and chronic liver disease. *Semin Respir Crit Care Med*. febrero de 2012;33(1):80-95.
222. Vance DE. Role of phosphatidylcholine biosynthesis in the regulation of lipoprotein homeostasis. *Curr Opin Lipidol*. junio de 2008;19(3):229-34.
223. Formation of methylamines from ingested choline and lecithin. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 28 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6842395>
224. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhoury R, Baker RD, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. febrero de 2013;57(2):601-9.
225. Woese CR, Stackebrandt E, Macke TJ, Fox GE. A Phylogenetic Definition of the Major Eubacterial Taxa. *Syst Appl Microbiol*. 1 de septiembre de 1985;6(2):143-51.
226. Bacterial evolution. [Internet]. [citado 28 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC373105/>
227. Cuchacovich R. Clinical Applications of the Polymerase Chain Reaction: An Update. *Infect Dis Clin North Am*. 1 de enero de 2007;20:735-58, v.

228. Bartlett JMS, Stirling D. A short history of the polymerase chain reaction. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2003;226:3-6.
229. Bankowski MJ, Anderson SM. Real-time nucleic acid amplification in clinical microbiology. *Clin Microbiol Newsl*. 15 de enero de 2004;26(2):9-15.
230. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, Buckwalter SP, Jones MF, Vetter EA, et al. Real-Time PCR in Clinical Microbiology: Applications for Routine Laboratory Testing. *Clin Microbiol Rev*. enero de 2006;19(1):165-256.
231. VanGuilder HD, Vrana KE, Freeman WM. Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. *BioTechniques*. abril de 2008;44(5):619-26.
232. Maccaferri S, Biagi E, Brigidi P. Metagenomics: key to human gut microbiota. *Dig Dis Basel Switz*. 2011;29(6):525-30.
233. Wang T, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, et al. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *ISME J*. febrero de 2012;6(2):320-9.
234. Wang Y, et al. (2012) | SGD [Internet]. [citado 10 de diciembre de 2019]. Disponible en: <https://www.yeastgenome.org/reference/S000150439>
235. Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, Bemben LA, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*. 15 de septiembre de 2005;437(7057):376-80.
236. Lazarevic V, Whiteson K, Huse S, Hernandez D, Farinelli L, Osterås M, et al. Metagenomic study of the oral microbiota by Illumina high-throughput sequencing. *J Microbiol Methods*. diciembre de 2009;79(3):266-71.
237. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 4 de marzo de 2010;464(7285):59-65.
238. Schrezenmeir J, de Vrese M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics--approaching a definition. *Am J Clin Nutr*. 2001;73(2 Suppl):361S-364S.
239. Hamilton MJ, Weingarden AR, Sadowsky MJ, Khoruts A. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol*. mayo de 2012;107(5):761-7.
240. Systematic review: faecal microbiota transplantation therapy for digestive and nondigestive disorders in adults and children. - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 29

de noviembre de 2019]. Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24641570>

241. Sáez-Lara M, Robles-Sanchez C, Ruiz-Ojeda F, Plaza-Diaz J, Gil A. Effects of Probiotics and Synbiotics on Obesity, Insulin Resistance Syndrome, Type 2 Diabetes and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Review of Human Clinical Trials. *Int J Mol Sci.* 13 de junio de 2016;17(6):928.

242. Suter M, Calmes J-M, Paroz A, Giusti V. A new questionnaire for quick assessment of food tolerance after bariatric surgery. *Obes Surg.* enero de 2007;17(1):2-8.

243. Esther Martín García, Jaime Ruiz-tobar Polo. *Vía Clínica de Cirugía Bariátrica.* Imediacomunicación; 2017.

244. Sherf-Dagan S, Zelber-Sagi S, Zilberman-Schapira G, Webb M, Buch A, Keidar A, et al. Probiotics administration following sleeve gastrectomy surgery: a randomized double-blind trial. *Int J Obes* 2005. 30 de agosto de 2017;

245. Woodard GA, Encarnacion B, Downey JR, Peraza J, Chong K, Hernandez-Boussard T, et al. Probiotics improve outcomes after Roux-en-Y gastric bypass surgery: a prospective randomized trial. *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract.* julio de 2009;13(7):1198-204.

246. Fernandes R, Beserra BTS, Mocellin MC, Kuntz MGF, da Rosa JS, de Miranda RCD, et al. Effects of Prebiotic and Synbiotic Supplementation on Inflammatory Markers and Anthropometric Indices After Roux-en-Y Gastric Bypass: A Randomized, Triple-blind, Placebo-controlled Pilot Study. *J Clin Gastroenterol.* marzo de 2016;50(3):208-17.

247. Chen J-C, Lee W-J, Tsou J-J, Liu T-P, Tsai P-L. Effect of probiotics on postoperative quality of gastric bypass surgeries: a prospective randomized trial. *Surg Obes Relat Dis.* 1 de enero de 2016;12(1):57-61.

248. Arredondo Bruce A, Guerrero Jiménez G, Arredondo Rubido A, Arredondo Bruce A, Guerrero Jiménez G, Arredondo Rubido A. Relación entre la microbiota del intestino y la tensión arterial. *MEDISAN.* octubre de 2019;23(5):967-80.

249. Villalobos FAM-, López-Lemus HL, Reyes-Escogido M de L, Ramírez-Emiliano J. Uso de Probióticos para el Control de la Hipercolesterolemia. *Arch Med [Internet].* 7 de noviembre de 2017 [citado 5 de junio de 2021];13(4). Disponible en:

<https://www.archivosdemedicina.com/abstract/uso-de-probioacuteticos-para-el-control-de-la-hipercolesterolemia-21536.html>

250. Farré N, Farré R, Gozal D. Sleep Apnea Morbidity: A Consequence of Microbial-Immune Cross-Talk? CHEST. 1 de octubre de 2018;154(4):754-9.
251. Rayner B, Ramesar R. The Importance of G Protein-Coupled Receptor Kinase 4 (GRK4) in Pathogenesis of Salt Sensitivity, Salt Sensitive Hypertension and Response to Antihypertensive Treatment. Int J Mol Sci. 1 de marzo de 2015;16:5741-9.
252. Bosch Gallego M. El consumo del probiótico *Lactobacillus plantarum* CECT 7315/7316 mejora el estado de salud general en personas de edad avanzada. Nutr Hosp. 1 de mayo de 2011;(3):227-30.
253. Charoenngam N, Shirvani A, Kalajian TA, Song A, Holick MF. The Effect of Various Doses of Oral Vitamin D3 Supplementation on Gut Microbiota in Healthy Adults: A Randomized, Double-blinded, Dose-response Study. Anticancer Res. 1 de enero de 2020;40(1):551-6.
254. Ronderos S de, Pilar M del. Ácido Fólico: nutriente redescubierto. Acta Médica Costarric. marzo de 2003;45(1):05-9.
255. Guo Z, Liu XM, Zhang QX, Shen Z, Tian FW, Zhang H, et al. Influence of consumption of probiotics on the plasma lipid profile: A meta-analysis of randomised controlled trials. Nutr Metab Cardiovasc Dis. noviembre de 2011;21(11):844-50.
256. PubMed entry [Internet]. [citado 19 de noviembre de 2019]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19390523>
257. Duncan SH, Lobley GE, Holtrop G, Ince J, Johnstone AM, Louis P, et al. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. Int J Obes 2005. noviembre de 2008;32(11):1720-4.
258. Gao X, Jia R, Xie L, Kuang L, Feng L, Wan C. A study of the correlation between obesity and intestinal flora in school-age children. Sci Rep [Internet]. 28 de septiembre de 2018 [citado 16 de junio de 2020];8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6162261/>
259. Microbios intestinales humanos asociados con la obesidad | Naturaleza [Internet]. [citado 6 de junio de 2021]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/4441022a>
260. Álvarez J, Fernández Real JM, Guarner F, Gueimonde M, Rodríguez JM, Saenz



de Pipaon M, et al. Microbiota intestinal y salud. *Gastroenterol Hepatol* [Internet]. [citado 7 de junio de 2021]; Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-avance-resumen-microbiota-intestinal-salud-S0210570521000583>

261. (PDF) Pathophysiological role of host microbiota in the development of obesity. *ResearchGate* [Internet]. [citado 6 de junio de 2021]; Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/301612014\\_Pathophysiological\\_role\\_of\\_host\\_microbiota\\_in\\_the\\_development\\_of\\_obesity](https://www.researchgate.net/publication/301612014_Pathophysiological_role_of_host_microbiota_in_the_development_of_obesity)

262. Janssens Y, Nielandt J, Bronselaer A, Debunne N, Verbeke F, Wynendaele E, et al. Disbiome database: linking the microbiome to disease. *BMC Microbiol.* 4 de junio de 2018;18(1):50.

263. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 21 de diciembre de 2006;444(7122):1027-31.

264. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature.* 22 de enero de 2009;457(7228):480-4.

265. Walters WA, Xu Z, Knight R. Meta-analyses of human gut microbes associated with obesity and IBD. *FEBS Lett.* 17 de noviembre de 2014;588(22):4223-33.

266. Furet J-P, Kong L-C, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot J-L, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes.* diciembre de 2010;59(12):3049-57.

267. Million áM, Angelakis E, Maraninchi M, Henry M, Giorgi R, Valero R, et al. Correlation between body mass index and gut concentrations of *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium animalis*, *Methanobrevibacter smithii* and *Escherichia coli*. *Int J Obes.* 2013;37(11):1460-6.

268. Adachi K, Sugiyama T, Yamaguchi Y, Tamura Y, Izawa S, Hijikata Y, et al. Gut microbiota disorders cause type 2 diabetes mellitus and homeostatic disturbances in gut-related metabolism in Japanese subjects. *J Clin Biochem Nutr.* mayo de 2019;64(3):231-8.

269. Allin KH, Tremaroli V, Caesar R, Jensen BAH, Damgaard MTF, Bahl MI, et al.

Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes. *Diabetologia*. 2018;61(4):810-20.

270. Chávez-Carbajal A, Nirmalkar K, Pérez-Lizaur A, Hernández-Quiroz F, Ramírez-Del-Alto S, García-Mena J, et al. Gut Microbiota and Predicted Metabolic Pathways in a Sample of Mexican Women Affected by Obesity and Obesity Plus Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci*. 21 de enero de 2019;20(2).

271. Durgan DJ. Obstructive Sleep Apnea-Induced Hypertension: Role of the Gut Microbiota. *Curr Hypertens Rep*. abril de 2017;19(4):35.

272. Farré N, Farré R, Gozal D. Sleep Apnea Morbidity: A Consequence of Microbial-Immune Cross-Talk? *CHEST*. 1 de octubre de 2018;154(4):754-9.

273. Schweiger C, Weiss R, Keidar A. Effect of Different Bariatric Operations on Food Tolerance and Quality of Eating. *Obes Surg*. octubre de 2010;20(10):1393-9.

274. Mechanick JI, Apovian C, Brethauer S, Garvey WT, Joffe AM, Kim J, et al. CLINICAL PRACTICE GUIDELINES FOR THE PERIOPERATIVE NUTRITION, METABOLIC, AND NONSURGICAL SUPPORT OF PATIENTS UNDERGOING BARIATRIC PROCEDURES - 2019 UPDATE: COSPONSORED BY AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS/AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY, THE OBESITY SOCIETY, AMERICAN SOCIETY FOR METABOLIC & BARIATRIC SURGERY, OBESITY MEDICINE ASSOCIATION, AND AMERICAN SOCIETY OF ANESTHESIOLOGISTS - EXECUTIVE SUMMARY. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol*. diciembre de 2019;25(12):1346-59.

275. Ruiz-Tovar J, Bozhychko M, Del-Campo JM, Zubiaga L, Llaveró C. Food Tolerance and Quality of Alimentation Following Laparoscopic Sleeve Gastrectomy Calibrated with a 50-Fr Bougie: Long-Term Results. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. junio de 2018;28(6):721-5.

276. Friedrich AE, Damms-Machado A, Meile T, Scheuing N, Stingel K, Basrai M, et al. Laparoscopic Sleeve Gastrectomy Compared to a Multidisciplinary Weight Loss Program for Obesity—Effects on Body Composition and Protein Status. *Obes Surg*. diciembre de 2013;23(12):1957-65.



## **VIII.ANEXO**



# *Tolerance to Specific Foods After Laparoscopic Sleeve Gastrectomy*

**Carlos Diaz-Lara, Carolina Curtis,  
Manuel Romero, Antonio Palazón-Bru,  
María Diez-Tabernilla, Inmaculada  
Oller, Antonio Arroyo, et al.**

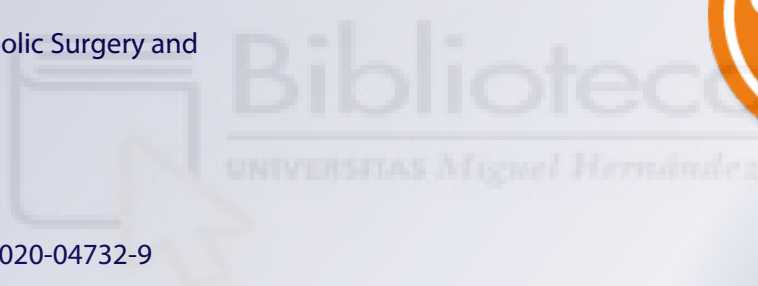
## **Obesity Surgery**


The Journal of Metabolic Surgery and  
Allied Care

ISSN 0960-8923

OBES SURG

DOI 10.1007/s11695-020-04732-9





**Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at [link.springer.com](http://link.springer.com)".**



# Tolerance to Specific Foods After Laparoscopic Sleeve Gastrectomy

Carlos Diaz-Lara<sup>1</sup> · Carolina Curtis<sup>1</sup> · Manuel Romero<sup>2</sup> · Antonio Palazón-Bru<sup>3</sup> · María Diez-Tabernilla<sup>1</sup> · Inmaculada Oller<sup>1</sup> · Antonio Arroyo<sup>1,2</sup>  · Francisco Javier Lacueva<sup>1,2</sup>

Received: 15 February 2020 / Revised: 19 May 2020 / Accepted: 19 May 2020  
© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2020

## Abstract

**Purpose** We assessed the degree of tolerance to different types of food after LSG to provide specific useful advice concerning food intake to these patients during the first postoperative year.

**Methods** A specific questionnaire measuring tolerance to 59 types of food was completed in postoperative months 1, 3, 6, 9, and 12 in a prospective consecutive cohort of patients who underwent LSG. An ordinal score of tolerance based on the median (Me) and a cumulative link ordinal model (CLOM) analyzing temporal variability in oral tolerance to each type of food were used. Foods with Me values of 3 points or higher and CLOM values of approximately 80% or higher were considered well tolerated.

**Results** Sixty-five patients were included in the study. The questionnaire was completed in the first, third, sixth, ninth, and twelfth months by 42 (64%), 44 (67%), 41 (63%), 41 (63%), and 39 (60%) patients, respectively. All kinds of fish were very well tolerated. Regarding meat intake, chicken, turkey, rabbit, and minced meat were well tolerated, whereas lamb, veal, and pork were not. Except for noodles and toasted bread, a poor degree of tolerance during follow-up was found for most carbohydrates. Yogurt, skimmed milk, and cottage cheese were well tolerated. A heterogeneous degree of tolerance was observed for vegetables, with cooked vegetables being well tolerated, and raw vegetables not.

**Conclusion** Our study provides individual information on specific foods regarding their degree of tolerance. This information may be useful for advising patients during the first postoperative year after LSG.

**Keywords** Morbid obesity · Laparoscopic sleeve gastrectomy · LSG · Food tolerance · Food recommendations

**Electronic supplementary material** The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s11695-020-04732-9>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Antonio Arroyo  
arroyocir@hotmail.com

Carlos Diaz-Lara  
carlosdiazlara@gmail.com

Carolina Curtis  
aniloracmc91@gmail.com

Manuel Romero  
mromero@umh.es

Antonio Palazón-Bru  
antonio.pb23@gmail.com

María Diez-Tabernilla  
mariadieztabernilla@gmail.com

Inmaculada Oller  
inma-oller@hotmail.com

Francisco Javier Lacueva  
fjlacueva@gmail.com

<sup>1</sup> Bariatric and Metabolic Surgery Unit, Section of Gastrointestinal Surgery, Hospital General Universitario de Elche, Alicante, Spain

<sup>2</sup> Department of Surgery, Miguel Hernández University of Elche, Alicante, Spain

<sup>3</sup> Department of Clinical Medicine, Miguel Hernandez University of Elche, Alicante, Spain

## Introduction

Laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) is currently the most common bariatric surgical procedure performed worldwide [1]. However, restrictive techniques may impair tolerance to food intake [2], and there are no clinical guidelines taking into account tolerance changes that provide recommendations for the reintroduction of specific foods after LSG. Overall, this lack of guidance in addition to other effects such as sleeve dilation or neurohormonal signal adaptation may lead to less weight loss or paradoxical weight gain, as well as vitamin and protein deficiencies and quality of life problems [3–5]. Protein intake after bariatric surgery is considered to be of vital importance because it results in satiety, improves nutritional status, and reduces the risk of muscle tissue loss [6]. The loss of protein and muscle tissue is a negative phenomenon, as non-adipose tissue is responsible for a greater metabolic expenditure at rest, in addition to regulating body temperature and weight maintenance [7]. Although a slight decrease in serum albumin has been observed after LSG, values usually remain within normal ranges during the first postoperative year [5]. To minimize muscle tissue loss and other complications after LSG, current consensus clinical nutritional guidelines recommend a daily intake of 60 g of protein per day or 1.5 g/kg/day based on an ideal body mass index (BMI) [8–10].

Food tolerance can significantly affect quality of life and the recovery of patients undergoing LSG. The Bariatric Analysis and Reporting Outcome System (BAROS) questionnaire was the first to evaluate the results of this surgery according to weight loss, self-esteem, physical activity, work activity, social and sexual relationships, and the resolution or improvement of comorbidities and complications. However, this questionnaire did not include oral tolerance as a quality-of-life parameter [11, 12]. Other questionnaires compare the different surgical techniques and their outcomes with regard to tolerances to different food groups, but these questionnaires do not detail tolerance to each type of food [13–15].

Several studies have analyzed the frequency of intake of some different types of foods after bariatric surgical procedures [15, 16]. However, no previous study has thoroughly analyzed tolerance to specific foods during the first postoperative period after LSG. The aim of this study was to assess the tolerance to different types of food after LSG in an attempt to provide useful clinical information to these patients during the first postoperative year.

## Materials and Methods

We performed a prospective cohort study including consecutive patients with morbid obesity who underwent LSG between January 2018 and March 2019 at a University Hospital located on the Mediterranean coast in Eastern Spain

(Europe). The Bariatric Surgery Committee comprising surgeons, endocrinologists, psychiatrists, nutritionists, and anesthesiologists established the indication for LSG. Patients with morbid obesity were included and were considered those with a BMI  $\geq 40$  or BMI  $\geq 35$  in the presence of an obesity-associated illness, such as diabetes or sleep apnea and/or metabolic syndrome defined as central obesity in addition to any two of the following factors: elevated fasting plasma glucose, elevated blood pressure, high triglycerides, or reduced HDL cholesterol [17]. All patients signed informed consent forms for both the surgery and completion of the food questionnaire. This study was approved by the hospital's Ethics Research Committee.

All LSGs were performed by laparoscopy and by the same surgical team. The stomach section started at 4 cm proximal to the pylorus and extended to the angle of His, and no reinforcement of the stapled line was performed. A 40 French probe was used to control the diameter of the remaining stomach. All patients began liquid tolerance testing at 6 h after the surgery and were discharged 48 h later if no complications emerged. All patients followed the Spanish multimodal rehabilitation program for bariatric surgery [18].

Different types of food were chosen according to the usual intake of Mediterranean diet products. Our questionnaire included 44 recommendable and 15 non-recommendable foods in a hypocaloric diet to assess common intake among patients undergoing bariatric surgery. Implementation of the postoperative diet followed a 3-phase protocol and was overseen by a nutritionist. Phase 1 began with liquid tolerance testing at 6 h after surgery and was sustained over the first week. Two hyperproteic hypocaloric shakes per day were given as nutritional supplements. Phase 2 consisted of the introduction of a pureed diet during the second postoperative week; pureed meat and fish protein were consumed and the shake supplements were discontinued. Phase 3 was established from the third week, whereby a 1000-cal diet including solid food was introduced. This facilitated an adequate homogeneous postoperative diet for all patients (Annex 1).

The evaluation of food tolerance was carried out postoperatively in the first, third, sixth, ninth, and twelfth months following LSG. A specific food tolerance questionnaire based on the validated Suter questionnaire [13] was designed (Annex 2). Different types of food were evaluated and classified into 6 different groups: liquids, meats, fish, carbohydrates, dairy products, and vegetables. The foods included in each group are detailed in Table 1. Three nutritionists verified the face validity, checking that different types of food included in the scale were properly classified into the different food groups (free-marginal kappa 0.99; 95% CI 0.96–1.00). In addition, 8 patients with morbid obesity who did not undergo the operation were asked if the questionnaire included all the foods in their common diet (content validity, free-marginal kappa 0.81; 95% CI 0.44–1.00). Furthermore, these patients



**Table 1** Food groups

Liquids	Broth, water, infusions, milk, coffee, juices, wine, carbonates
Meats	Chicken, turkey, rabbit, minced meat, lamb, veal, pork
Fish	Surimi, white fish, blue fish, seafood, canned tuna.
Carbohydrates	Noodles, toasted bread, white bread, croutons, sliced bread, oats, spaghetti, macaroni, rice, muffin, cakes, buns
Dairy products	Liquid yogurt, yogurt, skimmed milk, cottage cheese, melted cheese, sliced cheese, spreadable cheese, cured cheese, full fat milk, liquid chocolate, bar chocolate
Vegetables	Mushroom, pumpkin, zucchini, chard, green beans, spinach, olives, pepper, cucumber, tomato, onion, celery, lettuce, lentils, beans, chickpeas.

also assessed the legibility of the questions and the response scale, and 90.5% of these patients agreed that the questionnaire was easy to understand. Finally, the internal consistency of the questionnaire was assessed. Each answer had a score related to food tolerance based on vomiting episodes or oral intake difficulties for each type of food considered (Table 2). This questionnaire was delivered to every patient at each postoperative check-up.

Descriptive statistics of the tolerance score are expressed as the median (Me) and interquartile range (IQR) (Table 3). In addition, a cumulative link ordinal model (CLOM) was created to analyze the temporal variability in oral tolerance to each type of food. A *p* probability value was assigned for each type of food. To analyze the temporal variability, time was used as an independent variable in an equation with a power of up to 1. With this model, we calculated the probability of good or very good oral tolerance (Me score of 3 points or higher) from the results obtained over the period analyzed (first, third, sixth, ninth, and twelfth months). In this way, the risk of not having a satisfactory tolerance to the food (Me score less than 3) was calculated. Probability values of approximately 80% were considered adequate for identifying a good or very good oral tolerance. Based on these criteria, the model would predict a satisfactory food tolerance for 8 of 10 patients.

Foods with a value of Me of 3 or higher along with CLOM values close to 80% or higher at most postoperative periods were considered well tolerated. Foods with medians up to 2 at more than one follow-up or CLOM lower than 60% at more than 2 follow-up periods were considered poorly tolerated. Foods with values in between were classified as fairly well

tolerated. All statistical analyses were carried out using the program R 2.13.2.

## Results

A total of 65 patients were included in this study. The median age was  $46 \pm 14$  years. Forty-three (66%) patients were women, and the median BMI was  $44 \pm 7.1$  kg/m<sup>2</sup>. During postoperative follow-up, the questionnaire was completed in the first, third, sixth, ninth, and twelfth months by 42 (64%), 44 (67%), 41 (63%), 41 (63%), and 39 (60%) patients, respectively. The Me values obtained and the oral tolerance probability of each type of food after applying the CLOM are detailed in Table 3. Approximately, one-fifth (22%) of the patients admitted consuming some non-recommendable drinks or food at some time during the postoperative period.

Liquids were generally well tolerated (Table 3). Broth, infusions, and juices were the best tolerated drinks. Only wine was poorly tolerated during the postoperative period. Carbonated beverages, which are non-recommendable drinks for these patients, presented the poorest tolerance.

Among meats, chicken, turkey, rabbit, and minced meat were well tolerated. Lamb, veal, and especially pork were poorly tolerated throughout the first postoperative year (Table 3).

All kinds of fish were well tolerated, especially surimi and white fish. Canned tuna was the only fish that appeared to be only fairly well tolerated.

**Table 2** Score tolerance

Survey score (Me)	Tolerance	Interpretation
0 points	Poor level of tolerance	Complete food intolerance
1 point	Low level of tolerance.	May have 2 or more vomiting episodes per week.
2 points	Partial level of tolerance	May present 1 vomit episode per week.
3 points	Good level of tolerance	Not vomiting, but may present intake difficulties
4 points	High level of tolerance	Neither vomiting nor intake difficulties

Me: median (0–4)

**Table 3** Degree of tolerance for each specific food

Food	Month 1	Month 3	Month 6	Month 9	Month 12
<b>Liquids</b>					
Broth	3.5 (3–4) (94)	3 (3–4) (94)	3 (3–4) (94)	3.5 (3–4) (94)	4 (3–4) (94)
Infusions	3 (3–4) (90)	3 (2–3) (89)	3 (3–4) (89)	4 (3–4) (89)	3 (3–4) (89)
Coffee	3 (3–4) (79)	3 (2–3.8) (80)	3 (3–4) (82)	3 (3–4) (83)	3 (2–4) (84)
Juices	3 (3–4) (91)	3 (3–4) (90)	3 (3–4) (89)	3 (3–4) (88)	3 (2.5–4) (87)
Water	3 (2–4) (78)	3 (2–3) (78)	3 (2–3) (76)	3 (2–4) (76)	3 (2–4) (74)
<b>Meats</b>					
Chicken	3 (2–3) (75)	3 (2–3) (75)	3 (2–4) (75)	3 (2–4) (75)	3 (2–4) (74)
Turkey	3 (2–3) (75)	3 (2–4) (75)	3 (2–4) (75)	3 (2–4) (75)	3 (2–4) (74)
Rabbit	3 (1.8–3.3) (80)	3 (2–3) (78)	3 (1–3) (76)	3 (2–4) (73)	3 (2–3) (70)
Minced meat	3 (2–4) (80)	3 (2–3) (79)	3 (2–3) (76)	3 (2–4) (73)	3 (2–4) (70)
Lamb	3 (2–4) (57)	3 (1–3) (54)	3 (2–3) (49)	2 (1.5–3) (44)	2 (1.8–3) (39)
Veal	3 (1.5–3.5) (40)	2 (2–3) (40)	3 (1–3) (39)	2 (2–3) (36)	3 (1.5–3) (36)
Pork	2.5 (2–3.8) (41)	3 (1–3) (39)	2 (1–3) (36)	2 (2–3) (32)	2 (2–3) (29)
<b>Fish</b>					
Surimi	4 (2.3–4) (96)	3 (3–4) (94)	3 (2.3–4) (92)	3 (3–4) (90)	3 (3–4) (86)
White fish	3 (2.8–4) (87)	3 (3–4) (87)	3 (2–4) (86)	4 (3–4) (85)	3.5 (2–4) (84)
Blue fish	3 (2–4) (84)	3 (3–4) (83)	3 (2–3) (82)	3 (2–4) (80)	3 (2–4) (77)
Seafood	3 (2.5–4) (85)	3 (3–4) (84)	3 (3–4) (82)	3 (2–4) (80)	3 (3–4) (78)
Canned tuna	3 (2–4) (67)	3 (3–4) (67)	3 (2–4) (68)	3 (2–4) (69)	3 (2–4) (69)
<b>Carbohydrates and pastries</b>					
Noodles	3 (2.5–3) (85)	3 (3–4) (83)	3 (3–4) (81)	3 (2–4) (79)	3 (2–3) (76)
Macaroni	2 (2–3) (64)	2 (2–3) (58)	2 (2–3) (48)	3 (2–3) (39)	2 (1–3) (30)
Spaghetti	2 (2–3) (63)	3 (2–3) (57)	2 (2–3) (47)	2 (2–4) (37)	2 (1–3) (28)
Rice	2.5 (2–3) (42)	2 (2–3) (41)	3 (2–3) (36)	2 (1–3) (36)	2 (1–3) (33)
Toasted bread	3 (2–3) (60)	3 (2–3.5) (64)	3 (2–3) (69)	3 (2–4) (74)	3 (3–4) (82)
White bread	2.5 (1–3) (65)	3 (2–3) (64)	3 (1–3) (63)	3 (2–4) (61)	3 (2–3) (60)
Croutons	3 (2–3) (45)	2 (2–3) (48)	2 (2–3) (52)	3 (2–3) (56)	3 (2–3) (60)
Sliced bread	2 (1–3) (39)	2 (1–3) (39)	2 (1–3) (40)	2 (2–3) (40)	2 (1–3) (41)
Oats	4 (3–4) (67)	3 (3–3) (63)	2 (2–3) (56)	2 (2–3) (48)	3 (2–3) (41)
<b>Dairy products</b>					
Liquid yogurt	3 (3–4) (88)	3 (2.75–4) (86)	3 (2–4) (85)	3.5 (3–4) (82)	3 (2.5–4) (80)
Yogurt	3 (3–4) (87)	3 (2–4) (86)	3 (3–4) (84)	3 (3–4) (82)	3 (2–4) (81)
Skimmed milk	3 (2.5–4) (86)	3 (2–4) (84)	3 (2–4) (82)	3 (2–4) (80)	3 (2–4) (78)
Cottage cheese	3 (3–4) (91)	3 (3–4) (90)	3 (2–4) (89)	4 (3–4) (87)	3 (3–4) (86)
Melted cheese	3 (0.75–4) (68)	2 (2–3) (68)	3 (2–4) (68)	3 (2–4) (69)	3 (2–3) (69)
<b>Vegetables</b>					
Mushroom	3 (2.5–3.5) (83)	3 (2–4) (83)	3 (3–4) (81)	3 (2–4) (80)	3 (2–4) (79)
Pumpkin	3 (3–4) (75)	3 (2–3) (75)	3 (2–3) (76)	3 (2–4) (76)	3 (2–3.3) (77)
Zucchini	3 (3–4) (85)	3 (2.5–3) (85)	3 (2–4) (84)	3 (2–4) (83)	3 (2–4) (81)
Chard	3 (3–4) (84)	3 (2–3) (83)	3 (2–3) (80)	3 (2–3.5) (77)	3 (2–3) (73)
Green beans	3.5 (3–4) (78)	3 (2–3) (78)	3 (2–3) (77)	3 (2–4) (77)	3 (3–3.5) (77)
Spinach	3 (3–4) (75)	3 (2–3) (74)	3 (2–3) (74)	3 (2–4) (73)	3 (2–4) (72)
Olive	3 (3–4) (81)	3 (2.8–3) (78)	3 (2–3) (72)	2.5 (2–3) (66)	3 (2–3) (59)
Tomato	3 (2–3.3) (63)	3 (2–3) (61)	3 (2–3) (58)	3 (2–3) (55)	2 (2–3) (52)
Pepper	3 (2–4) (66)	3 (2–3) (66)	3 (2–3) (65)	3 (2–4) (64)	3 (2–3) (63)
Cucumber	3 (2–3.8) (64)	3 (2–3) (62)	2 (2–3) (57)	2 (2–3) (53)	3 (2–3) (48)
Onion	3 (2–4) (63)	3 (2–3) (60)	2 (2–3) (55)	3 (2–3) (49)	2 (1.3–3) (44)
Celery	3 (3–3) (52)	2.5 (2–3) (54)	2 (2–3) (56)	3 (2–3) (58)	3 (2–3.8) (65)

**Table 3** (continued)

Food	Month 1	Month 3	Month 6	Month 9	Month 12
Lettuce	3 (2–3) (50)	3 (2–3) (48)	2 (1–3) (46)	2 (1–3) (43)	2 (2–3) (41)
Lentils	3 (3–3.8) (82)	3 (2.3–3.8) (81)	3 (2.8–3) (80)	3 (2–4) (78)	3 (2–3) (77)
Beans	3 (2–4) (59)	3 (2–3) (62)	3 (2–3) (65)	3 (2–4) (69)	3 (2–3) (72)
Chickpeas	3 (2.5–3.5) (57)	3 (2–3) (59)	3 (2–3) (63)	3 (2–3.5) (67)	3 (2–3) (70)

Me (IQR) (CLOM): Me: median (0–4). *IQR* interquartile range, *CLOM* food tolerance probability calculated by the cumulative like ordinal model  
Well tolerated, Me ≥ 3 and CLOM close to 80 or higher. Poorly tolerated, Me ≤ 2 at more than one follow-up period and CLOM < 60 at more than two follow-up periods

Tolerance to different carbohydrates was variable (Table 3). Although noodles were well tolerated, other types of pasta, such as macaroni and spaghetti and rice, were poorly tolerated throughout the first postoperative year. White bread was only fairly well tolerated throughout the first postoperative year and toasted bread tolerance improved with time. Croutons and sliced bread were poorly tolerated throughout the postoperative period. Tolerance to oats became gradually impaired over the postoperative period.

Concerning dairy products, all kinds of yogurts, skimmed milk, and cottage cheese were very well tolerated from the beginning. However, melted cheese was only fairly well tolerated, and sliced cheese and cheese spread were only fairly well tolerated from the ninth month and thereafter. Concerning the non-recommended dairy products, cured cheese was fairly well tolerated. Chocolate and especially chocolate bars were fairly well tolerated from the ninth month. Full-fat milk was poorly tolerated.

Tolerance to vegetables after LSG was also heterogeneous. Mushrooms, pumpkin zucchini, chard, and green beans were well tolerated during the postoperative period. Spinach was also quite well tolerated. Olives were well tolerated at the beginning, but tolerance to this food worsened from the sixth month and thereafter. Peppers were only fairly well tolerated. Although cucumber, tomato, and onion were fairly well

tolerated at the beginning, tolerance to these foods worsened considerably after the sixth month. Celery was poorly tolerated at the beginning, but it was fairly well tolerated at the end of the first year. Lettuce was undoubtedly the vegetable least well tolerated (Table 3). Among legumes, lentils were the best tolerated. Beans were fairly well tolerated at the beginning and tolerance improved slightly from the sixth month on. Chickpeas were poorly tolerated at the beginning, but tolerance improved at the end of the first postoperative year.

With these findings, we classified every specific food according to the degree of tolerance into recommendable, recommendable with caution and non-recommendable categories (Table 4). Only recommended foods available for a hypocaloric diet for operated patients with morbid obesity were considered.

## Discussion

We were able to classify 44 specific foods that may be considered in a hypocaloric diet according to their oral tolerance over the first postoperative year, and the degree of recommendation for each is provided. To our knowledge, there is no previous study analyzing tolerance to a vast amount of foods in detail after LSG.

**Table 4** Recommendation in accordance with the degree of tolerance

Foods	Recommendable	Recommendable with caution	Non-recommendable
Liquids	Broth, water, infusions, coffee, juices,	Cold water	Wine
Meat	Chicken, turkey, minced meat, rabbit		Lamb, veal, pork
Fish	Surimi, white fish, blue fish, seafood	Canned tuna	
Carbohydrates and pastries	Noodles, toasted bread	White bread	Spaghetti, macaroni, rice, croutons, sliced bread, oats
Dairy products	Liquid yogurt, yogurt, skimmed milk, cottage cheese	Melted cheese	Sliced cheese, spreadable cheese
Vegetables	Mushrooms, pumpkin, zucchini, chard, green beans, spinach, lentils	Pepper, olives, beans*, chickpeas*	Cucumber, onion, tomato, celery#, lettuce

Recommendable, well tolerated with Me ≥ 3 and CLOM ≥ 80. Non-recommendable, poorly tolerated with Me ≤ 2 at more than one follow-up period and CLOM < 60 at more than two follow-up periods. (reviewer #1)

\*#Recommendable with caution from the ninth month on. Recommendable with caution by the end of the first year

Our study distinguished different degrees of tolerance among meats. Poor tolerance to red meat during the first postoperative year has already been referred to in other studies [2, 19], and it was confirmed in our patients; therefore, this type of meat should be avoided. We also confirmed the good tolerance to chicken in agreement with other studies [19]. In addition, turkey, minced meat, and rabbit may also be recommendable, and they may be kept in mind as interesting meats for maintaining an appropriate protein intake. Except for canned tuna, all types of fish assessed may be recommendable, confirming previous findings [2, 19]. Thus, fish is an interesting nutritional food to guarantee a good protein intake after LSG. In a study assessing tolerance to chicken and fish after LSG, laparoscopic gastric bypass (GBP), and gastric band (GB) procedures, LSG achieved the best tolerance score for both foods [2].

Our analysis showed a poor degree of tolerance for carbohydrates during the first postoperative year, with most not being recommendable. Among bread, only toasted bread may be recommendable from the sixth month on, and white bread should only be recommendable with caution. Except for noodles, most kinds of pasta should probably be avoided. Good tolerance to noodles may be partly attributed to the fact that they are usually cooked in broth. Two previous studies analyzed tolerance to bread, pasta, and rice after LSG [2, 19]. Although both studies reported difficulty in tolerating bread, there was a discrepancy regarding tolerance to pasta; however, a detailed analysis of different types of bread and pasta was lacking in these studies. Finally, although rice was tolerated with some difficulty in these studies, it was much better tolerated than in our study. This difference might depend on whether rice is cooked in broth or if it is cooked with other foods.

Reduced fat–dairy products are a good source of high-quality protein in a healthy diet, and cheese and yogurt are recommended in the Mediterranean dietary pattern [20], yet no studies have been performed concerning the tolerance to dairy products after LSG. In our study, all kinds of yogurts and skimmed milk were quite well tolerated from the beginning; these foods being recommendable with a high degree of confidence. However, tolerance to cheese was heterogeneous. Cottage cheese is the only cheese that may be safely recommendable, whereas melted cheese should only be recommendable with caution.

Tolerance to vegetables was also quite variable. According to our study, some vegetables such as mushrooms, pumpkin zucchini, chard, green beans, and even spinach, which are usually cooked in boiling water, may be recommendable. In contrast, other vegetables such as cucumber, onion, tomato, celery, and especially lettuce, which are usually eaten raw in a mixed salad, should not be recommended during the first postoperative year. Surprisingly, tolerance to olives was good at the beginning,

but it gradually worsened during the postoperative period. Two previous studies assessed tolerance to salad and unspecified vegetables after LSG [2, 19]. Both reported that salad was tolerated with some difficulties during the first 6 months improving slightly thereafter. In contrast, vegetables were well tolerated from the beginning in one study [19], though another study found some difficulty in tolerating vegetables during the first 6 months, only improving slightly thereafter [2]. Finally, it is remarkable that among legumes, which have a high protein content, only lentils appear to be recommendable from the early period; in contrast, beans and chickpeas might be recommendable with caution only from the ninth month.

Some studies have evaluated tolerance after bariatric surgical procedures, and the Suter questionnaire was usually applied [2, 13, 19, 21–23]. In general, these studies described that food tolerance after LSG and GBP is significantly better than that after GB. It is remarkable that some of these studies showed a continuous progressive improvement from the first to the fifth postoperative year, even with worse tolerated foods [21, 23]. Our study focused on the first postoperative year, during which tolerance to different foods is more challenging. Finally, a slight decrease in serum albumin and some serum micronutrient deficiencies particularly affecting iron, vitamin B12 and B6, and folate have been reported following LSG [7]. Nonetheless, analysis of the nutritional quality of a diet based on the recommendable foods was beyond the scope of our study.

In addition to Me, the predicted tolerance to each food over the period of time studied was assessed by CLOM. Cumulative link models are a powerful model class for ordering categorical data because observations are treated as categorical data; indeed, cumulative link models are the most commonly used class of ordinal models. In our opinion, this analysis provides more reliable data. Although the sample size analyzed in our study might be considered modest, we believe that the large amount of individual information obtained from these patients may be helpful in advising patients about common specific foods that are better tolerated after LSG. In general, information related to tolerance to some of the specific foods analyzed should be adapted for patients with morbid obesity living in countries or regions with different eating habits.

In conclusion, our study provides detailed information on specific foods with regard to their degree of tolerance after LSG. This information may be useful to advise patients following this restrictive surgical procedure during the first postoperative year.

## Compliance with Ethical Standards

**Conflict of Interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

**Ethical Approval** All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

**Informed Consent** Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

## References

1. Ali M, El Char M, Ghiassi S, et al. American society for metabolic and bariatric surgery updated position statement on sleeve gastrectomy as a bariatric procedure. *Surg Obes Relat Dis.* 2017;13(10):1652–7.
2. Schweiger C, Weiss R, Keidar A. Effect of different bariatric operations on food tolerance and quality of eating. *Obes Surg.* 2010;20(10):1393–9.
3. Nogués X, Goday A, Jesus Peña M, et al. Bone mass loss after sleeve gastrectomy: a prospective comparative study with gastric bypass. *Cir Esp Engl Ed.* 2010;88(2):103–9.
4. Davies DJ, Baxter JM, Baxter JN. Nutritional deficiencies after bariatric surgery. *Obes Surg.* 2007;17:1150–8.
5. Damms-Machado A, Friedrich A, Kramer KM, et al. Pre- and post-operative nutritional deficiencies in obese patients undergoing laparoscopic sleeve gastrectomy. *Obes Surg.* 2012;22(6):881–9.
6. Faria SL, Faria OP, Buffington C, et al. Dietary protein intake and bariatric surgery patients: a review. *Obes Surg.* 2011;21(11):1798–805.
7. Friedrich AE, Damms-Machado A, Meile T, et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy compared to a multidisciplinary weight loss program for obesity—effects on body composition and protein status. *Obes Surg.* 2013;23(12):1957–65.
8. Mechanick JI, Apovian C, Brethauer S, et al. Clinical practice guidelines for the perioperative nutrition, metabolic, and nonsurgical support of patients undergoing bariatric procedures – 2019 update: cosponsored by American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology, The Obesity Society, American Society for Metabolic and Bariatric Surgery, Obesity Medicine Association, and American Society of Anesthesiologists. *Obesity.* 2013;28(4):1–58.
9. Stein J, Stier C, Raab H, et al. Review article: the nutritional and pharmacological consequences of obesity surgery. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;40(6):582–609.
10. Chambrier C, Sztark F, Société Francophone de nutrition clinique et métabolisme (SFNEP), Société française d'anesthésie et réanimation (SFAR). French clinical guidelines on perioperative nutrition. Update of the 1994 consensus conference on perioperative artificial nutrition for elective surgery in adults. *J Visc Surg.* 2012;149(5):e325–36.
11. Oria HE, Moorehead MK. Bariatric Analysis and Reporting Outcome System (BAROS). *Obes Surg.* 8:487–99.
12. Oria HE. How to use the bariatric analysis and reporting outcome system. *Surg Obes Relat Dis.* 2012;8(1):130–1.
13. Suter M, Calmes J-M, Paroz A, et al. A new questionnaire for quick assessment of food tolerance after bariatric surgery. *Obes Surg.* 2007;17(1):2–8.
14. Shai I, Henkin Y, Weitzman S, et al. Long-term dietary changes after vertical banded gastroplasty: is the trade-off favorable? *Obes Surg.* 2002;12(6):805–11.
15. Ernst B, Thurnheer M, Wilms B, et al. Differential changes in dietary habits after gastric bypass versus gastric banding operations. *Obes Surg.* 2009;19(3):274–80.
16. Ruiz-Tovar J, Bozhychko M, Del-Campo JM, et al. Changes in frequency intake of foods in patients undergoing sleeve gastrectomy and following a strict dietary control. *Obes Surg.* 2018;28(6):1659–64.
17. IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome 2006. 2019. <https://www.idf.org/e-library/consensus-statements/60-idfconsensus-worldwide-definition-of-the-metabolic-syndrome>
18. Ruiz-Tovar J, Muñoz JL, Royo P, et al. Implementation of the Spanish ERAS program in bariatric surgery. *Minim Invasive Ther Allied Technol.* 2018;27(6):365–72.
19. Ramon JM, Gonzalez CG, Dorcaratto D, et al. Quality of food intake after bariatric surgery: vertical gastrectomy versus gastric bypass. *Cir Esp.* 2012;90(2):95–101.
20. Gonzalez-Campoy JM, St Jeor ST, Castorino K, et al. Clinical practice guidelines for healthy eating for the prevention and treatment of metabolic and endocrine diseases in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists/the American College of Endocrinology and the Obesity Society. *Endocr Pract.* 2013;19(Suppl 3):1–82.
21. Freeman RA, Overs SE, Zarshenas N, et al. Food tolerance and diet quality following adjustable gastric banding, sleeve gastrectomy and Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Res Clin Pract.* 2014;8(2):e115–200.
22. Cano-Valderrama O, Sanchez-Pernaute A, Rubio-Herrera MA, et al. Long-term food tolerance after bariatric surgery: comparison of three different surgical techniques. *Obes Surg.* 2017;27:2868–72.
23. Ruiz-Tovar J, Bozhychko M, Del-Campo JM, et al. Food tolerance and quality of alimentation following laparoscopic sleeve gastrectomy calibrated with a 50-Fr Bougie: long-term results. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2018;28(6):721–5.

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.