

<https://doi.org/10.48061/SAN.2022.24.4.230>

ESTUDIO METAGENÓMICO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA SOMETIDOS A CIRUGÍA BARIÁTRICA

METAGENOMIC STUDY OF THE INTESTINAL MICROBIOTA IN PATIENTS WITH MORBID OBESITY UNDERGOING BARIATRIC SURGERY

Susana Gutt¹, María Mascardi², Axel Beskow³, Ana Tamaroff¹, Julieta Trinks², Dong Woo¹, Hilda Aragona¹, Valeria Zlotnitzky¹, Ayelen Rosso⁴, Fernando Wright³, Agustín Duro³, Virginia Cano Busnelli³, Bárbara Suárez² y Alberto Penas Steinhardt⁴

¹ Sección Nutrición - Servicio Clínica Médica Hospital Italiano de Buenos Aires.

² Instituto de Medicina Traslacional e Ingeniería Biomédica (IMTIB) - CONICET - Hospital Italiano.

³ Sección Esofagogastrica - Servicio de Cirugía General Hospital Italiano de Buenos Aires.

⁴ Laboratorio de Genómica Computacional. Universidad Nacional de Luján - CONICET.

Correspondencia: Susana Gutt

E-mail: susana.gutt@hospitalitaliano.org.ar

Presentado: 28/08/23. Aceptado: 08/11/23

RESUMEN

Introducción: La cirugía bariátrica (CB) es un tratamiento quirúrgico de la obesidad, cuyo objetivo es lograr el descenso de peso, de masa grasa y alcanzar un impacto metabólico a largo plazo. Se ha observado que ciertos pacientes no responden tan efectivamente a la cirugía, teniendo un descenso de peso inefectivo o recuperando peso tardíamente, y los mecanismos por lo que esto ocurre aún no están bien caracterizados. La microbiota intestinal tiene un rol esencial en varios de los procesos metabólicos asociados a la obesidad. El objetivo de este estudio fue caracterizar el metagenoma intestinal de pacientes candidatos para CB y otros que fueron operados, así como también evaluar las diferencias entre aquellos pacientes que tuvieron un resultado exitoso de la CB y los que no.

Material y método: Se extrajo el ADN de 200 mg de heces de pacientes que cumplen criterios de CB, divididos en 3 grupos, basal (preoperatorio), 12 meses y más de 24 meses postoperatorios, con el fin de estudiar y comparar el perfil taxonómico de las comunidades bacterianas de la microbiota intestinal.

Resultados: Mientras que la riqueza específica de los grupos de estudio no presentó diferencias significativas, la diversidad beta, que considera las abundancias relativas de los miembros de las comunidades bacterianas estudiadas, evidenció una composición global significativamente diferente entre los grupos de estudio. Sin embargo, nuestro análisis no identificó taxones específicos que pudieran dar explicación a la distinta evolución postoperatoria de los pacientes.

Discusión: En la estructura de las comunidades microbianas, se observaron diferencias numéricas entre los grupos en cuanto a la riqueza y abundancia de taxones así como la comparación cuanti y cualitativa. Esta última presentó significativa disimilitud. Los resultados muestran que la principal diferencia entre los grupos de estudio se basó en la abundancia relativa de los gérmenes, cuyo estudio integral podría revelar patrones más consistentes y significativos vinculados a los mecanismos de respuesta terapéutica en sujetos sometidos a CB.

Palabras clave: microbiota; Cirugía Bariátrica; obesidad.

ABSTRACT

Introduction: Bariatric surgery (BS) is a surgical treatment of obesity, which aims to achieve weight loss, fat mass loss and achieve a long-term metabolic impact. It has been observed that certain patients do not respond as effectively to surgery, having ineffective weight loss or regaining weight late, and the mechanisms by which this occurs are not yet well characterized. The intestinal microbiota plays an essential role in several of the metabolic processes associated with obesity. The objective of our study was to characterize the intestinal metagenome of candidate patients for CB and others who underwent surgery, as well as evaluate the differences between those patients who had a successful outcome from CB and those who did not.

Material and method: DNA was extracted from 200 mg of feces from patients who met the criteria for surgical indication,

divided into 3 groups, baseline (preoperative), 12 months and more than 24 months postoperatively, in order to analyze and compare the taxonomic profile of the bacterial communities of the intestinal microbiota.

Results: While the specific richness of the study groups did not present significant differences, beta diversity, which considers the relative abundances of the members of the bacterial communities studied, showed a significantly different global composition between the study groups. Nevertheless, our study did not identify specific taxa that could explain the different postoperative evolution of the patients.

Discussion: In the structure of the microbial communities, numerical differences were observed between the groups in terms of the richness and abundance of taxa as well as the quantitative and qualitative comparison. The latter evidenced significant dissimilarity. The results show that the main difference between the study groups was based on the relative abundance of the germs, whose comprehensive study could reveal more consistent and significant patterns linked to the therapeutic response mechanisms in subjects subjected to CB.

Bariatric surgery (BS) is a surgical treatment of obesity, whose objective is to achieve weight loss, fat mass and achieve a long-term metabolic impact. However, it has been observed that certain patients do not respond as effectively to surgery, having ineffective weight loss or late weight regain, and the mechanisms by which this occurs are not yet well characterized. The intestinal microbiota plays an essential role in several of the metabolic processes associated with obesity. The aim of this study was to characterize the intestinal metagenome of patients who will and who underwent BS, as well as to assess the differences between those patients who had a successful BS outcome and those who did not. Our results did not identify specific taxa that could explain the different evolution of the patients. While the specific richness of the study groups did not present significant differences, the beta diversity, which considers the relative abundances of the members of the studied bacterial communities, showed a significantly different global composition between the study groups.

Keywords: microbiota; Bariatric Surgery; obesity.

INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial caracterizada por la acumulación de tejido adiposo en exceso que afecta al equilibrio neuro-inmuno-metabólico y psicosocial¹. Su patogenia y evolución involucran factores genéticos, epigenéticos y del estilo de vida, con un fuerte componente inflamatorio subyacente asociado a las propiedades neuroendócrinas e inmunológicas del tejido adiposo. Esta patología se asocia a comorbilidades como diabetes tipo 2 e hipertensión arterial, entre otras; en consecuencia, a un aumento del riesgo cardiovascular y oncogénico, por lo cual representa un foco clave para la salud pública². De acuerdo con la Encuesta Nacional de Factores de Riesgo 2019, el 61,6% de la población adulta argentina padece de sobrepeso (IMC ≥ 25 kg/m²), y el 25,4%, de obesidad (IMC ≥ 30 kg/m²)³.

El tratamiento de la obesidad se basa en modificaciones en el estilo de vida (actividad física y comportamiento alimentario, ordenamiento del sueño), sumada a la intervención farmacológica y/o quirúrgica en ciertas circunstancias. Al respecto, la cirugía bariátrica (CB) es el tratamiento quirúrgico de la obesidad que, a través de una modificación de la anatomía digestiva, impacta en los mecanismos neuroendócrinos de regulación metabólica y nutricional. Se considera un resultado exitoso de la CB con un nivel de evidencia grado A al descenso del porcentaje de sobrepeso perdido: $(\text{peso inicial} - \text{peso final}) / (\text{peso inicial} - \text{peso ideal})$ mayor al 50% al primer año de cirugía⁴.

Existen múltiples factores que condicionan la respuesta a la intervención quirúrgica en los meses posteriores al tratamiento. Entre ellos se encuentran algunos factores no modificables o genéticos, y un grupo de factores modificables entre los que destacan la adherencia a las recomendaciones de comportamiento alimentario y la actividad física⁵.

La microbiota intestinal es el conjunto de microorganismos que residen en el intestino, incluyendo bacterias, virus, hongos, protozoos y arqueas, de los cuales las primeras son las más abundantes. La composición taxonómica y funcional de la microbiota intestinal desempeña un papel fundamental en la salud humana, y se vincula con funciones biológicas tales como el suministro de nutrientes esenciales, la digestión de alimentos y la detoxificación de compuestos. Al mismo tiempo, juega un rol esencial en la modulación del sistema inmunitario, la sensibilidad a la insulina, el metabolismo de hidratos de carbono y el de lípidos. Por otro lado, la estructura de estas comunidades se ve fuertemente influenciada por factores genéticos y del estilo de vida, entre los que destacan las características cuali y cuantitativas de la alimentación⁶. La microbiota intestinal actualmente está sujeta a investigaciones que la vinculan con el desarrollo y progresión del síndrome metabólico y la obesidad, así como también podría estar involucrada en el condicionamiento del éxito de la CB⁷.

Por estos motivos, el objetivo de este estudio fue describir las características del metagenoma intestinal de pacientes candidatos a cirugía bariátrica y pacientes postquirúrgicos en diferentes tiempos luego de su cirugía. Por otro lado, se compararon subgrupos de pacientes, cuya evolución luego de 2 años del tratamiento qui-

rúrgico fue o no exitosa, a fin de identificar firmas específicas de la microbiota intestinal asociadas a la falla en la respuesta terapéutica luego de la CB. Se espera identificar cambios en la composición de las comunidades bacteriana intestinales en beneficio de aquellas cuyo metabolismo optimiza la regulación metabólica y nutricional del huésped^{8,9}.

MATERIALES Y MÉTODOS

El reclutamiento de pacientes fue llevado a cabo en el Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA). Se reclutaron pacientes con obesidad mórbida y criterios para ser sometidos a CB, según el Consenso Argentino Intersociedades de Cirugía Bariátrica y Metabólica 2019¹⁰. Este grupo de pacientes, que sería sometido a CB, fue definido como grupo basal (GB). Por otro lado, se reclutaron también pacientes en postoperatorio de CB que concurren a seguimiento por el equipo de CB del HIBA. De esta forma, se definieron otros dos grupos de pacientes: aquellos que habían sido sometidos a CB hace 12 meses (G1) y los que lo fueron 24 meses antes o más (G2). Dado que la obesidad es una enfermedad crónica y progresiva con alta tendencia a la recidiva, no todos los pacientes logran una evolución satisfactoria en términos de pérdida de peso y algunos presentan recuperación de este. En el grupo G2 tomamos como criterio el porcentaje de sobrepeso perdido (PSP), el cual permitió distinguir a dos subgrupos de pacientes que denominamos con “terapéutica exitosa” (TE) y otro denominado “falla en respuesta terapéutica” (FT), que corresponde a los pacientes que presentaron un PSP menor al 50% a los 24 o más meses posteriores a su CB¹¹.

Se incluyeron pacientes de entre 18 y 65 años que cumplieron con los criterios de indicación quirúrgica¹⁰ y se excluyeron pacientes que presentaron su negativa a participar o que habían realizado tratamiento antibiótico en los 2 meses previos a la toma de muestras.

La participación en este estudio fue en todos los casos voluntaria y certificada por el proceso de consentimiento informado, de acuerdo con las normativas vigentes: Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, Disposición 5330/07 de ANMAT, y las Normas de Buenas Prácticas Clínicas ICH E6; y fue aprobado por el Comité de Ética en Protocolos de Investigación del Hospital Italiano de Buenos Aires (CEPI) Aprobación N° 2708.

Se documentaron datos clínicos, demográficos y antropométricos de cada participante al momento de la consulta. Cada sujeto proporcionó una muestra de heces recolectada en un frasco estéril de boca ancha, de acuerdo con un protocolo de recolección, almacenamiento y transporte previamente descrito¹². Una vez en el laboratorio, las muestras fueron conservadas a -80°C.

Se extrajo el ADN de 200 mg de heces utilizando el kit PowerSoil® DNA Isolation Kit (Mo Bio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración y pureza de los ácidos nucleicos fue determinada mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% y espectrofotometría en NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, EE. UU.).

Con el fin de estudiar el perfil taxonómico de las comunidades bacterianas de la microbiota intestinal de los pacientes, se amplificaron las regiones hipervariables V3 y V4 del gen 16S del ARN ribosomal bacteriano a partir de 30 ng de ADN purificado, utilizando Illumina® MiSeq (Illumina, San Diego, CA, EE. UU.). La calidad de las secuencias generadas a partir de esta secuenciación fue evaluada a través de DADA2 v.1.26¹³, y luego fueron analizadas mediante el software QIIME para la identificación de unidades taxonómicas operativas (OTUs) y asignación taxonómica (filo, clase, familia y género; umbral de confianza = 97%) a partir de la base de datos SILVA 138 SSU¹⁴.

Las características clínicas y demográficas de los sujetos reclutados fueron comparadas a través del test de análisis de la varianza (ANOVA).

Con el fin de identificar taxones con abundancia diferencial entre los grupos TE y FT, se realizó un análisis de comparación de microbiomas con corrección de sesgo (ANCOM-BC) en R v.4.3¹⁵.

La estructura de las comunidades de la microbiota intestinal de cada grupo fue analizada en este estudio de acuerdo con su diversidad alfa y beta utilizando el paquete vegan en R Studio¹⁶.

La diversidad alfa se evaluó mediante el índice de Shannon y se comparó entre grupos mediante la prueba de Wilcoxon, mientras que la disimilitud entre muestras fue objetivada por su diversidad beta, la cual se evaluó mediante distancias de Bray-Curtis (cuantitativa) y Sørensen (cualitativa). Luego, se compararon entre grupos mediante la aplicación de la prueba ANOVA. La distribución de las muestras de acuerdo con la disimilitud en su composición se evaluó a través de la técnica de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) y se graficó con el paquete *ggplot2* de R¹⁷.

En todos los casos, se consideraron significativos aquellos valores cuyo valor de *p* fuera menor a 0,05.

RESULTADOS

Características de los sujetos reclutados

Se reclutaron 92 (100%) pacientes de los cuales 77 (84 %) recolectaron la muestra solicitada. Luego de eliminar 3 muestras como consecuencia de lecturas de baja calidad (ver siguiente apartado), se analizaron los datos de los 74 pacientes remanentes, que se distribuyeron de la siguiente manera: 16 pertenecían al grupo GB, 18 al grupo G1 y 40 al G2. El grupo G2 fue evaluado y subdividido de acuerdo con la evolución de los pacientes: aquellos cuyo PSP fue mayor al 50% se clasificaron dentro el subgrupo TE (n=28), mientras que los que presentaron PSP menor al 50% se clasificaron en FT (n=12).

La media de la edad de los individuos fue mayor en el grupo G2, lo cual es de esperar considerando que los pacientes de este grupo son aquellos cuya intervención quirúrgica ocurrió hace más tiempo. Por otro lado, se observó una disminución significativa del índice de masa corporal (IMC) en el grupo G1 al comparar con pacientes del grupo GB (Tablas 1 y 2).

Análisis cualitativo de los datos de secuenciación

Las lecturas de baja calidad y las secuencias químéricas se filtraron y se eliminó el ruido de los datos sin procesar con DADA2, lo que finalmente produjo un promedio de 48.789 lecturas por muestra. Del total de muestras provenientes de los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión, 3 muestras (1 del grupo GB y 2 del grupo G2) fueron eliminadas del análisis por haberse obtenido un bajo número de lecturas en la secuenciación (<10000).

Perfil taxonómico de la microbiota: composición y dominancia

Se identificó un total de 768 OTUs clasificadas a nivel género en todas las muestras, de las cuales 489 estaban presentes en el grupo GB, 633 en el grupo G1, y 607 en el G2. Se cuantificaron los taxones para cada nivel taxonómico (filo, familia, género), siendo Firmicutes y Bacteroidetes los filos dominantes en todos los casos (abundancia relativa mayor al 10%). A nivel familia, las bacterias pertenecientes a Lachnospiraceae, Bacteroidaceae, Prevotellaceae y Ruminococcaceae se encontraron entre los taxones dominantes en todos los grupos, con la excepción de Prevotellaceae, cuya abundancia fue del 6,56% en G1 (Tabla 3).

Por otro lado, los miembros del género Bacteroides presentaron dominancia en todos los grupos, mientras que Prevotella también presentó una abundancia relativa elevada en GB. La composición de las comunidades bacterianas de cada grupo a nivel de género se muestra en la Fig. 1.

En cuanto al índice Firmicutes/Bacteroidetes, se observaron los valores más altos en el grupo G2, mientras que el grupo G1 presentó el valor más bajo (Tabla 3).

Al realizar el análisis estadístico comparativo (ANCOM-BC) de la composición del microbioma de los grupos TE y FT, no se identificaron taxones específicos, cuya abundancia relativa difiriera de manera significativa.

Luego, la estructura taxonómica de las comunidades bacterianas de la microbiota de los grupos fue evaluada en cuanto a su diversidad. En cuanto a la diversidad alfa analizada a través del índice de Shannon, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio al comparar sus valores por el test de Wilcoxon, pero se evidenció una tendencia al aumento de la diversidad en el grupo G1 con respecto al GB, y una reducción en G2 al comparar con G1. Por otro lado, al analizar los subgrupos de G2 encontramos que mientras que la media de la diversidad alfa fue numéricamente mayor en el grupo FT, se observaron mayores valores de diversidad en muestras del grupo TE (Fig. 2).

Por último, el análisis de la diversidad beta de los OTUs bacterianos basado en el índice de disimilitud de Bray-Curtis, el cual considera las abundancias relativas, reveló una separación estadísticamente significativa entre las muestras del grupo G2 al comparar tanto con GB (p = 0,039) como con G1 (p = 0,048), así como también ocurrió al comparar al grupo TE con el grupo FT (p = 0,047) (Fig. 3). En cambio, al realizar el mismo análisis basándose en el índice de Sørensen, que solo toma el dato de presencia-ausencia de los OTUs, no se observaron diferencias significativas en ninguno de los casos.

DISCUSIÓN

La CB es un tratamiento de la obesidad, cuyos efectos sobre la reducción de peso, mejoras en el control glucémico y en el estado inflamatorio de los pacientes han sido ampliamente demostrados¹⁸. La modificación del comportamiento de ingesta de alimentos, la alteración de la secreción de hormonas intestinales, el cambio en el vaciamiento gástrico, el metabolismo de los ácidos biliares y los cambios en la gluconeogénesis intestinal

se han postulado como posibles explicaciones de las mejoras en composición corporal, el metabolismo de los nutrientes y el estado inflamatorio asociado con la CB, en especial con la técnica RYGB¹⁹. La reganancia de peso es un proceso posible luego de la pérdida de peso, cuya causa no es simple ni solo atribuible a la falta de adherencia de los pacientes a un cambio de estilo de vida. Potentes mecanismos biológicos favorecen la recuperación del peso, ya sea por aumento de la ingesta energética o disminución del gasto energético a través de la adaptación metabólica, vinculados a efectos impulsados por mecanismos centrales asociados al placer y la recompensa²⁰.

En este sentido, los cambios en la composición y actividad de la microbiota intestinal también han sido propuestos como factores clave²¹. En este estudio, la estructura de las comunidades microbianas de pacientes candidatos a CB fue evaluada y comparada con la de pacientes que fueron sometidos a este tratamiento. A pesar de observar diferencias numéricas entre los grupos en cuanto a la riqueza y abundancia de taxones (objetivadas por el índice de Shannon de diversidad alfa), estos resultados no fueron estadísticamente significativos. Además, se pudo observar una tendencia a la mayor diversidad en G1 con respecto a GB, y una menor diversidad en G2 al comparar con G1. Estos cambios podrían estar vinculados a los efectos de la competencia entre los microorganismos intestinales en el contexto de la sucesión ecológica secundaria²². La modificación de la anatomía del tubo digestivo dada por la CB y sus consecuencias funcionales configuran un disturbio, provocando inestabilidad en las dinámicas de la microbiota. Ante este evento agudo, ocurre una reducción abrupta de la abundancia de las bacterias intestinales, las cuales deben adaptarse a las nuevas condiciones del sistema. En los primeros estadios luego del disturbio, la tasa de crecimiento de las bacterias será el principal condicionante de la composición de las comunidades, pero posteriormente los eventos de competencia entre los microorganismos determinarán que aquellos con mayor capacidad de adaptación o *fitness* dominen, mientras que algunas especies desaparecerán. Estos eventos de sucesión podrían explicar las fluctuaciones observadas en la diversidad alfa en los distintos tiempos postquirúrgicos.

Mientras que la comparación cuantitativa de los niveles de riqueza y abundancia no evidenció diferencias significativas entre grupos, las características cualitativas de la microbiota, objetivadas por su diversidad beta, presentaron significativa disimilitud. La distancia de Bray-Curtis es una medida de disimilitud entre muestras o grupos que considera las abundancias relativas de los miembros de una comunidad para cuantificar sus diferencias. En este sentido, nuestros resultados muestran que la composición de la microbiota del grupo G2 fue significativamente diferente a la de GB y G1, así como también ocurrió al comparar a los subgrupos TE y FT. Por otro lado, el índice de Sørensen cuantifica la disimilitud entre grupos considerando solamente el dato de presencia-ausencia de taxones. Los resultados obtenidos al comparar a los grupos por este índice no fueron significativos. En conjunto, estos resultados muestran que la principal diferencia entre los grupos de estudio no se basó en la identidad de las bacterias de la microbiota, sino en su abundancia relativa.

En este estudio no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en la abundancia de taxones específicos en contraposición a lo hallado en algunos estudios previos^{8,9}. La interpretación de los resultados obtenidos debe ser cautelosa debido a las limitaciones asociadas a nuestro estudio. Entre ellas, destacamos, en primer lugar, las discrepancias en el tamaño muestral de cada grupo de estudio, lo cual limitó el poder estadístico de los análisis realizados. En este sentido, cabe destacar que la etapa de recolección de muestras se dio en el contexto de la pandemia de COVID-19 (de febrero a octubre de 2020), motivo por el cual no solo se vio limitado el número de CB concretadas, sino que también hubo un alto número de pacientes que, luego de haber aceptado participar y recibir su kit de recolección, decidieron rechazar su participación. En segundo lugar, existe una variabilidad biológica inherente a la microbiota en cuanto a su composición aún entre individuos de características clínicas similares. Por lo tanto, estudiar a estas comunidades desde un enfoque funcional e integral, complementando con secuenciación de genoma completo y/o del ARN, podría revelar patrones más consistentes y significativos vinculados a los mecanismos de respuesta terapéutica en sujetos sometidos a CB.

REFERENCIAS

1. Cappelletti A, Katz M. y colaboradores. *Obesidad, encrucijadas y abordajes*, 1° Edición, Buenos Aires, Editorial Akadi, 2017.
2. Reilly SM, Saltiel AR. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nature Reviews Endocrinology* 2017; 13: 633-43.
3. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. 4° Encuesta Nacional de Factores de Riesgo. Buenos Aires: MSyDS, 2019. https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-01/4ta-encuesta-nacional-factores-riesgo_2019_principales-resultados.pdf
4. van de Laar AW, Acherman Y. Weight loss percentile charts of large representative series: a benchmark defining sufficient weight loss challenging current criteria for success of bariatric surgery. *Obes Surg*. 2014 May;24(5):727-34.
5. Karmali S, Brar R, Shi X, et al. Weight recidivism postbariatric surgery: a systematic review. *Obes Surg* 2013;23:1922-33.

6. Tilg H, Kaser A. Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. *J Clin Invest*. 2011;121:2126-2132.
7. Okeke F, Roland BC, Mullin GE. The role of the gut microbiome in the pathogenesis and treatment of obesity. *Glob Adv Health Med*. 2014;3:44-57.
8. William Farin et al. Impact of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy on gut microbiota: a metagenomic comparative analysis *Surgery for Obesity and Related Diseases* 16 (2020) 852-862.
9. Tabasi M, Eybpoosh S, Siadat SD, Elyasina F, Soroush A, Bouzari S. Modulation of the Gut Microbiota and Serum Biomarkers After Laparoscopic Sleeve Gastrectomy: a 1-Year Follow-Up Study. *Obes Surg*. 2021 May;31(5):1949-1956. doi: 10.1007/s11695-020-05139-2. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33409976.
10. Comisión de Cirugía Bariátrica y Metabólica. Consenso Intersociedades, 2019. <http://sacobariatrica.org/wp-content/uploads/2019/10/CONSENSO-INTERSOCIEDADES-CByM-2019.pdf>
11. Busetto L, Bettini S, Makaronidi J, Roberts CA, Halford JC, Batterham RL. Mechanisms of weight regain. *European Journal of Internal Medicine* 2021; 93: 3-7.
12. Cardona S, Cassellas AE, Gallart M, Alastrue C, Dore J, Azpiroz F, Roca J, Guarner F, Manichanh C. Storage conditions of intestinal microbiota matter in metagenomic analysis. *BMC Microbiol*. 2012;12:158.
13. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 2016 Jul;13(7):581-3.
14. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucl. Acids Res*. 41 (D1): D590-D596, 2013.
15. Lin H, Peddada SD. Analysis of compositions of microbiomes with bias correction. *Nat Commun* 11, 3514 (2020).
16. Oksanen J, Simpson GL, Blanchet GF, Kindt R, Legendre P, Minchin PR, O'Hara RB, Solyomos P, Stevens HM, Szoecs E, Wagner H, Barbour M, Bedward M, Bolker B, Borcard D, Carvalho G, Chirico M, de Caceres M, Durand S, Antoniazzi Evangelista HB, FitzJohn R, Friendly M, Furneaux B, Hannigan G, Hill MO, Lahti L, McGlenn D, Ouellette MH, Ribeiro Cunha E, Smith T, Stier A, Ter Braak CJF, Weedon J. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.6-4; 2022.
17. Wickham H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*, 3ª Edición. Springer-Verlag; 2016.
18. Schauer PR, Kashyap SR, Wolski K, Brethauer SA, Kirwan JP, Pothier CE. Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. *N Engl J Med* 2012; 366:1567-1576.
19. Cani PD, Osto M, Geurts L, Everard A. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes* 2012; 3:4, 279-288.
20. Nori SF, Shelby RD, Atkins KD, Nguyen NT, Gadde KM. Weight Regain After Bariatric Surgery: Scope of the Problem, Causes, Prevention, and Treatment. *Current Diabetes Reports* 2023; 23:31-42.
21. Furet JP, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes* 2010; 59: 3049-3057.
22. Foster KR, Schluter J, Coyte KZ, Rakoff-Nahoum S. The evolution of the host microbiome as an ecosystem on a leash. *Nature* 2017; 548, 43-51.

Tabla 1. Características de los sujetos reclutados

Las características de los sujetos se compararon mediante la prueba ANOVA, identificando diferencias estadísticamente significativas en cuanto a edad, peso, IMC, triglicéridos en sangre y glucemia. Los valores significativos ($p < 0,05$) se indican en negrita. Desvío estándar (DS). Índice de masa corporal (IMC). Porcentaje de sobrepeso (PSP).

	GB	G1	G2	p-valor
Cantidad de pacientes	n = 17	n = 18	n = 43	-
Edad en momento quirúrgico (años), media ±DS	43,18 ± 10,79	41,78 ± 11,33	45,14 ± 12,50	0,57
Porcentaje género femenino	64%	72%	67%	0,89
Edad* (años), media ±DS	43,24 ± 10,95	42,78 ± 11,48	50,02 ± 12,58	0,042
Peso* (kg), media ±DS	120,82 ± 19,87	78,12 ± 15,11	87,74 ± 17,8	4,1E-10
Peso nadir (kg), media ±DS	-	87,21 ± 14,22	81,25 ± 11,93	0,29
Altura (cm), media ±DS	167,35 ± 8,76	163,67 ± 7,16	160,73 ± 26,38	0,52
IMC prequirúrgico, media ±DS	43,03 ± 5,17	29,21 ± 4,57	32,54 ± 5,6	3,6E-11
Triglicéridos en sangre* (mg/dl), media ±DS	200,5 ± 170,89	90,24 ± 30,27	99,37 ± 44,79	0,00031
Glucemia* (mg/dl), media ±DS	103,65 ± 18,17	90,94 ± 8,99	95,86 ± 10,94	0,013

* = Datos recolectados al momento del reclutamiento.

Tabla 2. Características de los subgrupos TE y FT

Las características de los sujetos se compararon mediante la prueba Wilcoxon Mann Whitney y Chi-cuadrado, identificando diferencias estadísticamente significativas en cuanto a triglicéridos en sangre y glucemia. Los valores significativos ($p < 0,05$) se indican en negrita. Desvío estándar (DS). Índice de masa corporal (IMC).

	TE	FT	p-valor
Cantidad de pacientes	n = 28	n = 12	-
Edad* (años), media \pmDS	48,64 \pm 13,45	52,67 \pm 10,25	0,497
Género femenino (n, %)	19, 67,86	7, 58,33	0,562
Peso* (kg), media \pmDS	122,2 \pm 21,65	128,1 \pm 26,22	0,615
Peso nadir (kg), media \pmDS	83,33 \pm 11,94	75 \pm 26,94	0,07
Altura (cm), media \pmDS	164,9 \pm 9,06	164,8 \pm 7,83	0,936
IMC prequirúrgico, media \pmDS	44,86 \pm 6,76	46,82 \pm 6,90	0,531
Triglicéridos en sangre* (mg/dl), media \pmDS	83,62 \pm 35,25	119,5 \pm 44,76	0,011
Glucemia* (mg/dl), media \pmDS	92,57 \pm 10,98	100,4 \pm 7,79	0,0086

* = Datos recolectados al momento del reclutamiento.

Tabla 3. Perfil taxonómico de la microbiota
Índice Firmicutes/Bacteroidetes (Índice F/B).

Niveles taxonómicos	n° Taxones			Taxones mayores al 10% de abundancia relativa			Índice F/B		
	GB	G1	G2	GB	G1	G2	GB	G1	G2
Filos	20			Firmicutes Bacteroidetes	Firmicutes Bacteroidetes	Firmicutes Bacteroidetes	1.56	1.52	1.65
Familias	133			Lachnospiraceae Bacteroidaceae Prevotellaceae Ruminococcaceae	Lachnospiraceae Bacteroidaceae Ruminococcaceae	Lachnospiraceae Bacteroidaceae Prevotellaceae Ruminococcaceae	-		
Géneros	346			<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Bacteroides</i>	-		

Figura 1. Composición de las comunidades bacterianas de cada grupo a nivel de género expresado en abundancia relativa. Se graficaron aquellos géneros cuya abundancia relativa fue superior al 1%.

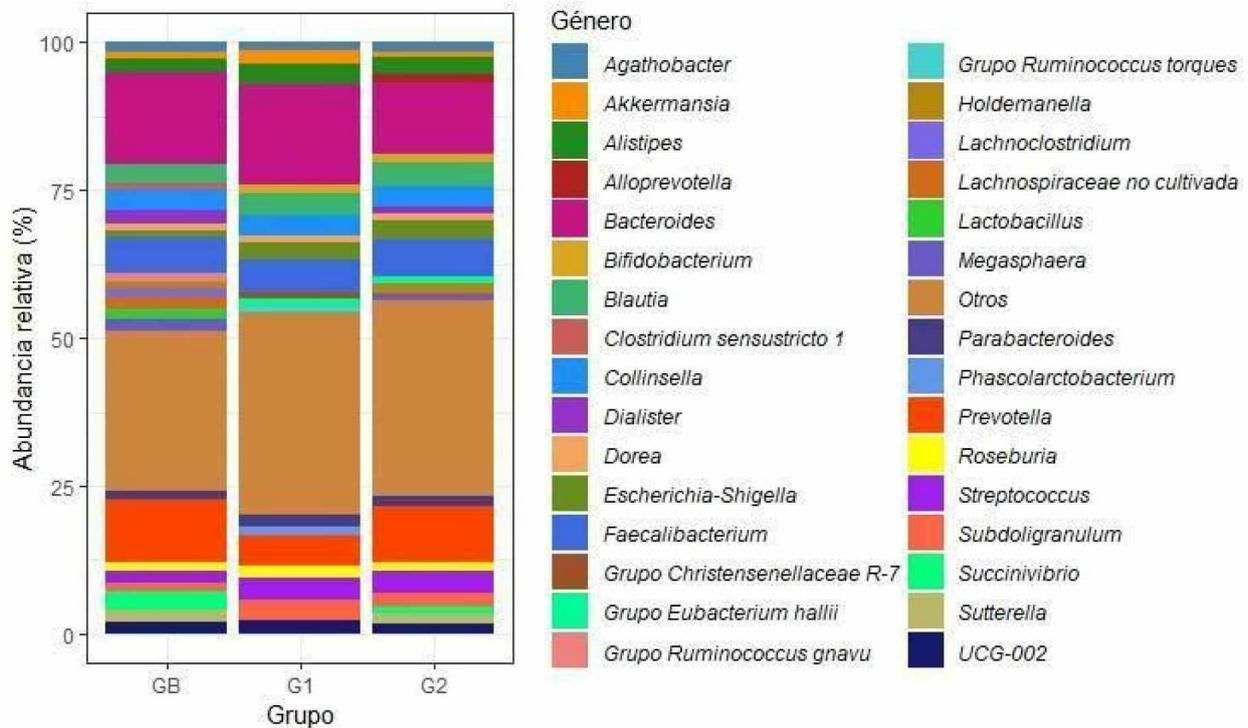
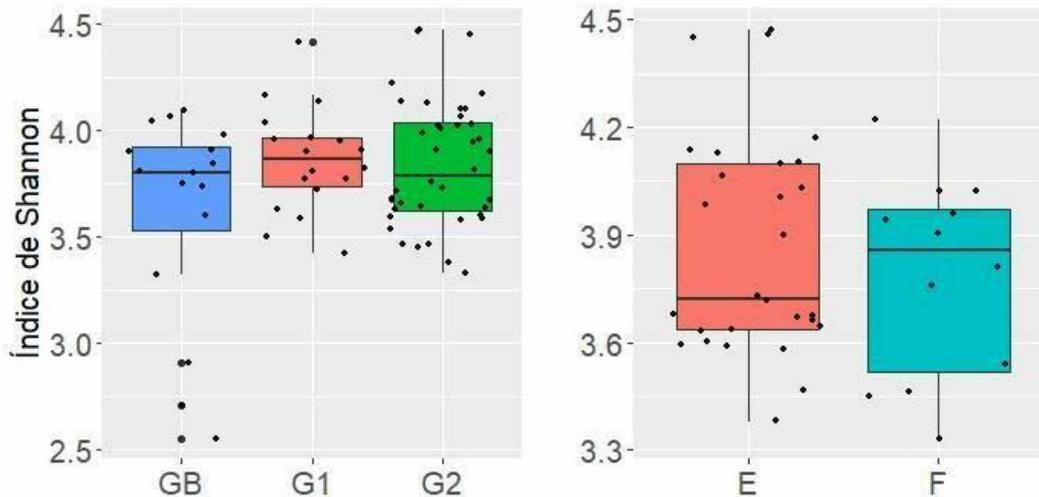


Figura 2. Diversidad alfa de las muestras de cada grupo evaluadas por índice de Shannon

Cada punto representa una muestra, la altura de los cuadrados indica el desvío estándar, y la línea horizontal dentro de ellos establece el valor de la media. La figura de la izquierda muestra los valores de los grupos de acuerdo con el tiempo postcirugía, mientras que la figura de la derecha indica estos mismos para los subgrupos con diferente respuesta al tratamiento quirúrgico.

Índice de diversidad de Shannon de los grupos de estudio

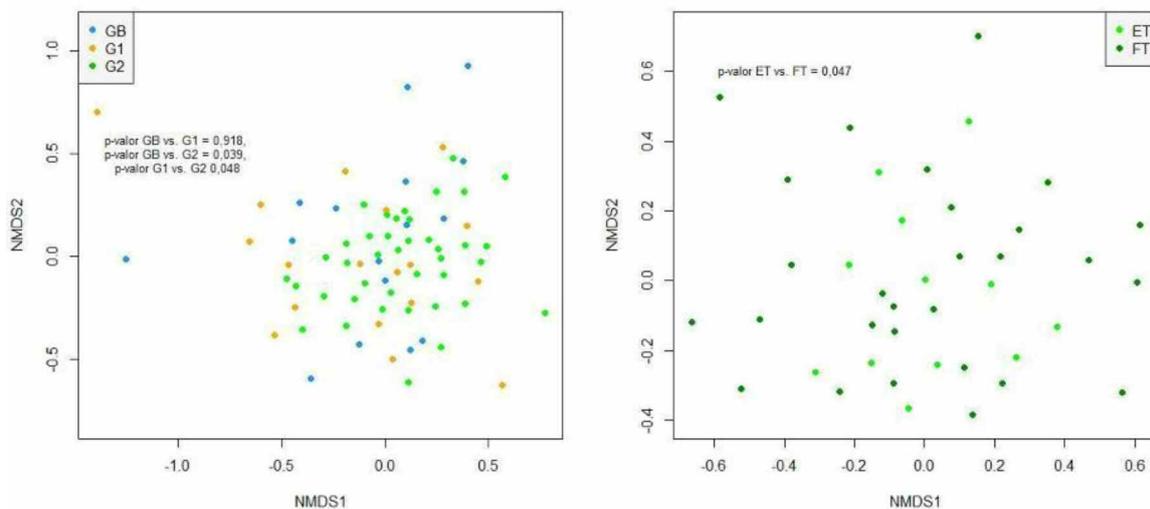


E = Tratamiento exitoso (TE). F = Falla en respuesta terapéutica (FT).

Figura 3. Escalamiento multidimensional no métrico

(NMDS) basado en distancias de Bray-Curtis entre las muestras de acuerdo con la composición de las comunidades bacterianas. Los valores de p indican la significancia de la diferencia en la composición global entre los grupos de estudio, evaluada por prueba ANOVA.

NMDS - Distancias de Bray-Curtis entre los grupos de estudio de acuerdo a la abundancia relativa de OTUs



Valores significativos $p < 0,05$.