Universitat de les Illes Balears

Efectos de la suplementación con kéfir en el control glucémico de diabetes gestacional, así como sus complicaciones.

RAQUEL NAVARRO PÉREZ

(Graduada en enfermería, 2013, Universitat Rovira i Virgili)

Memoria del Trabajo Final de Máster

Máster Universitario en Nutrición y Alimentación Humana

de la

UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS

Junio, 2019

Firmas

Autor _____ **Raquel Navarro Pérez** _____

[Fecha]

Certificado _____ **Isabel Lladó Sampol** _____

[Nombre]
Tutor del Trabajo

Certificado _____

[Nombre]
Cotutor del Trabajo

Aceptado _____

[Nombre]
Director del Máster Universitario en Nutrición y Alimentación Humana

ÍNDICE

- Resumen y palabras clave……Pág. 3-4
- Antecedentes……Pág. 5-8
    - Bibliografía……...Pág. 8-9
- Hipótesis……...Pág. 10
- Objetivos……...Pág. 10
- Metodología……..Pág. 10-13
    - Tamaño muestral
    - Diseño del estudio
    - Recogida de datos
    - Análisis de datos
    - Dificultades y limitaciones
    - Plan de trabajo
- Equipo investigador……..Pág. 14
- Aplicabilidad de los resultados…….Pág. 14
- Presupuesto estimado……Pág. 15
- Anexos……..Pág. 16-21
    - Anexo 1…….Pág. 16
    - Anexo 2…….Pág. 17
    - Anexo 3…….Pág. 18-21

Resumen

La flora intestinal es el conjunto de microorganismos o bacterias que viven en el intestino. El número de bacterias intestinales es 10 veces mayor que el número de células del organismo. Estas bacterias realizan funciones esenciales para la salud y el bienestar; como, por ejemplo, actuar como defensa del organismo, facilitar la correcta absorción de minerales, colaborar en la producción de vitaminas, entre otras; por lo que podríamos considerar la flora intestinal como un importante "órgano" más del organismo y su bienestar es fundamental para el mantenimiento de la salud. Es por esto que se ha intentado modificarla en beneficio de las personas; siendo una de estas formas de modificación mediante el consumo de probióticos.

Se define como probiótico al conjunto de microorganismos vivos, que, administrados en cantidades adecuadas mejoran la microbiota intestinal humana aportando múltiples beneficios a la salud. El kéfir es un probiótico con forma de gránulos que se nutre de leche fresca de vaca o de cabra y la hace fermentar mediante una reacción lacto-alcohólica, obteniendo como resultado una bebida parecida al yogur batido.

La diabetes gestacional es una complicación médica importante en el embarazo, causada principalmente por una resistencia tisular a la insulina en combinación con una inadecuada función de las células beta pancreáticas, resultando en una intolerancia a la glucosa. Un mal control de la enfermedad podría provocar complicaciones como preeclamsia, macrosomía e hipoglucemia neonatal entre otras. Uno de los tratamientos más importantes en esta patología es el cambio del estilo de vida, principalmente el seguimiento de una dieta adecuada.

Este estudio pretende probar si la modificación de la microbiota intestinal mediante la ingesta de probióticos, expresamente kéfir, podría controlar el nivel de glucemia en sangre en pacientes con diabetes gestacional. Para ello se utilizará un estudio de casos y controles aleatorizado de doble ciego en el cual se utilizarán 200 participantes divididos en 2 grupos, a un grupo se le proporcionará kéfir y al otro grupo yogur natural líquido. Se compararán ambos grupos mediante la obtención de parámetros bioquímicos como la glucemia basal o el índice de resistencia a la insulina antes y después de la intervención; así como la presencia o no de complicaciones asociadas a la diabetes gestacional.
De este estudio se pretende obtener un control de la glucemia y una disminución del número de complicaciones asociadas, por la introducción de kéfir en la dieta.

Abstract

The intestinal flora is the set of microorganisms or bacteria that live in the gut. The number of this is 10 times greater than the number of cells in the organism. These bacteria perform essential functions for health and well-being; For example, to act as a defense of the organism, to facilitate the correct absorption of minerals, to collaborate in the production of vitamins, among others, so we could consider the intestinal flora as an important "organ" more of the organism and its well-being is fundamental for the maintenance of the health. This is why it has been tried to modify it for the benefit of the people, being one of these forms of modification through the consumption of probiotics.

It is defined as probiotic to the set of living microorganisms, which, administered in appropriate quantities, improve human intestinal microbiota by providing multiple benefits to health. Kefir is a granule-shaped probiotic that feeds on fresh cow or goat milk and makes it ferment through a lacto-alcoholic reaction, resulting in a drink similar to yogurt milkshake.

Gestational diabetes is an important medical complication in pregnancy, mainly caused by tissue resistance to insulin in combination with inadequate function of pancreatic beta cells, resulting in a glucose intolerance. Poor control of the disease could lead to complications such

as eclampsia, macrosomia, and neonatal hypoglycemia among others. One of the most important treatments in this pathology is the lifestyle change, mainly the follow up of a proper diet.

This study aims to test whether the modification of intestinal microbiota by the ingestion of probiotics, expressly kefir, could control the blood glucose level in patients with gestational diabetes. This will be used a case-control study and randomized double blind in which will be used 200 participants divided into 2 groups, a group will be provided kefir and the other group natural yogurt liquid. Both groups will be compared by obtaining biochemical parameters such as baseline glycemia or the insulin resistance index before and after the intervention; As well as the presence or not of complications associated with gestational diabetes.
This study aims to obtain a control of blood glucose and a decrease in the number of complications associated with the introduction of kefir in the diet.

Palabras clave: Microbiota intestinal, probiótico, kéfir, glucosa, diabetes gestacional, prevención y control.

Keywords: Gut microbiota, probiotic, kefir, glucose, gestational diabetes, prevention, control.

1. Antecedentes

El ser humano está formado por millones de células, cada una de las cuales está especializada en una función diferente; pero también está habitado por diferentes microorganismos vivos proporcionándose en ambas direcciones beneficios, lo que conocemos como mutualismo. El mutualismo es, por tanto, una interacción biológica entre individuos de diferentes especies, donde ambos se benefician y mejoran su aptitud biológica. El genoma humano es parte de un genoma colectivo complejo con relaciones de comensalismo, mutualismo y patógenos que colonizan el cuerpo humano. Nuestro microbioma no solo incluye bacterias, sino también virus, protozoos y hongos. Teniendo en cuenta lo anterior, podríamos decir que, los humanos somos, "superorganismos" gobernados, en parte, por los microorganismos que hospedamos[1,5].

Podemos encontrar microorganismos en diferentes sistemas del cuerpo humano, como pueden ser, el tracto respiratorio, la piel y, sobre todo, en el tracto gastrointestinal. A lo largo de los años se ha ido investigando sobre la posible relación de estos microorganismos con el desarrollo o protección frente a diversas patologías, como, por ejemplo, el cáncer entre muchas otras.

El término microbiota hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos residentes en un nicho ecológico determinado. La microbiota intestinal es una de las más importantes, debido a su densidad poblacional, pudiéndonos encontrar con cifras que ascienden 10 veces más que el número de células del organismo[2]. Estos microorganismos presentes realizan funciones esenciales para la salud y el bienestar; como, por ejemplo, actuar como defensa del organismo, facilitar la correcta absorción de minerales o colaborar en la producción de vitaminas. Podríamos considerar la microbiota intestinal como un importante "órgano" más del cuerpo humano y su bienestar es fundamental para el mantenimiento de la salud[3].

Es importante destacar que, los microorganismos presentes en la microbiota intestinal están determinados por la dieta y los factores genéticos; influyendo así, en el predominio de ciertos microorganismos frente a otros. La abundancia o escasez de un alimento determinará la presencia o no de determinadas especies bacterianas[3], por lo tanto, cada ser humano dispondrá de una microbiota diferente.

La microbiota intestinal cambia con el paso de los años; en el útero, el ser humano carece de microbiota, sin embargo, al nacer, el tracto gastrointestinal se coloniza inmediatamente; sobre todo, con bacterias presentes en el canal del parto y en la leche materna. Ésta microbiota intestinal irá cambiando de acuerdo con la edad y la dieta En los dos primeros años de vida, la microbiota está dominada por bifidobacterias; y no es hasta la edad adulta donde adquiere su máxima complejidad dominada por más de 5000 especies de bacterias entre las que se incluyen *bacteroides, Eubacterium, Clostridum, Ruminococcus y Faecalibacterium.*[1,4]

Como se describe anteriormente, la microbiota intestinal ejerce numerosas funciones esenciales en la salud del ser humano; uno de estos beneficios es el importante efecto que ejerce sobre la respuesta inmune. La dieta y los efectos de ésta en la microbiota y la respuesta inflamatoria se han postulado como posibles explicaciones para el incremento de la incidencia de enfermedades inflamatorias como el asma y la diabetes.
La disbiosis se caracteriza por la presencia de un desajuste de la comunidad de microorganismos presentes en la microbiota intestinal con alteraciones en la composición y metabolismo de la misma, siendo esto relacionado con la patogénesis de diversas patologías[5]. Así pues, el equilibrio entre el sistema inmune y las funciones inmuno-reguladoras de las bacterias parece ser una delicada unión, en la cual la pérdida de una especie específica puede producir una reacción o supresión del sistema inmune innato.

Es por todo esto que se ha intentado modificarla en beneficio de las personas; siendo una de estas formas de modificación mediante el consumo de probióticos.

De acuerdo con la organización de alimentos y agricultura de las naciones unidas (FAO) se define como probiótico al conjunto de microorganismos vivos, que, administrados en cantidades adecuadas mejoran la microbiota intestinal humana aportando múltiples beneficios al huésped (FAO/WHO,2002). Estos microorganismos están representados principalmente por grupos de bacterias del ácido láctico, como, por ejemplo, *bifidobacteria y lactobacillus*; así como también de levaduras como *Saccharomyces*[6,7].

En las ultimas décadas, los suplementos con probióticos han sido utilizados para la prevención y tratamiento de enfermedades gastrointestinales en niños[8]. Éstos han demostrado ser efectivos en el manejo de la gastroenteritis conjuntamente con terapias de rehidratación[7].
Diversos estudios realizados *in vitro* e *in vivo* han demostrado que ciertas especies de probióticos pueden prevenir patologías y ser también susceptibles de ser usados en el tratamiento de otras muchas, pudiéndose así reducir la utilización de antibióticos y la consecuente resistencia a los mismos[7].

Hay evidencia de los efectos saludables de los probióticos para las siguientes patologías[9]: reducción de la infección por *Helicobater Pylori*, reducción en los síntomas de alergia, prevención y tratamiento del estreñimiento, efecto beneficioso en el metabolismo de minerales, particularmente en la densidad ósea y su estabilidad; prevención del cáncer, reducción del colesterol y triglicéridos en concentraciones plasmáticas.

Los efectos beneficios de los probióticos están determinados por la competitividad frente a patógenos de adherirse al epitelio intestinal y por nutrientes[6], antagonismo directo atribuido a la producción de determinadas moléculas, como bacteriocinas; y finalmente, la inmunomodulación del huésped.

El kéfir es un producto lácteo ácido, carbonatado y fermentado. Se obtiene por fermentación de la leche con una microbiota mixta confinada a una matriz de “granos de kéfir”. Es un probiótico natural que contiene cultivos activos vivos de la flora intestinal normal. La mayoría de las bacterias de ácido láctico presentes en el kéfir son consideradas bacterias probióticas como, por ejemplo, *Lactobacillus kefiri, Lactobacillus casei, Lactobacillus kefiranofaciens, Pediococcus acidilactici y Lactococcus Lactis* entre muchas otras; las cuales tienen beneficios para la salud[10,11].

La mayoría de los probióticos contienen un número pequeño de bacterias; la composición microbiológica y química del kéfir indica que es un probiótico mucho más complejo, debido gran número de diferentes bacterias y levaduras (más de 300 especies) encontrados en el mismo, lo distingue de otros productos probióticos[12].

El kéfir tiene un amplio rango de beneficios para la salud, incluyendo propiedades psicológicas, profilácticas y terapéuticas. Entre los efectos más destacables se encuentran[17]:

- Intolerancia a la lactosa: la enzima β-galactosina, presente en los gránulos de kéfir, reduce el contenido de lactosa durante la fermentación, favoreciendo así que el resultado final sea asimilable por aquellas personas intolerantes a la lactosa.
- Propiedades antimicrobianas: está relacionado sobre todo por una competición entre bacterias en el lumen intestinal por la obtención de nutrientes.
- Efecto hipocolesterolemiante
- Efecto antihipertensivo: el kéfir es capaz de inhibir la actividad de la enzima conversora de angiotensina (ECA).
- Efecto antiinflamatorio: por acción directa en la microbiota intestinal por la habilidad de este probiótico de disminuir o restaurar la permeabilidad intestinal, lo que reduce la respuesta inflamatoria.
- Actividad antioxidante: el kéfir ejerce un mayor efecto antioxidante que la vitamina E, ejerciendo un control en el estrés oxidativo disminuyendo los radicales libres.

- Actividad anticancerígena: es capaz de inhibir la proliferación e inducir la apoptosis de células cancerígenas, sobre todo en el desarrollo de cáncer de colon.
- Acción cicatrizante[13]: recientes estudios han demostrado la habilidad cicatrizante del kéfir aplicado tópicamente en forma de gel o crema, debido sobre todo a sus efectos antimicrobianos y antiinflamatorios.

- Control de la glucosa plasmática[14,17]: este efecto se atribuye principalmente a la habilidad de los probióticos de modular positivamente la composición del microbiota intestinal y por consecuencia, reducir la permeabilidad, el estrés oxidativo y la inflamación.

Hadisaputro et al[15] evaluaron el efecto del consumo de kéfir durante 30 días en el control de la glucemia en ratas Wistar inducidas a la diabetes mellitus por la administración de streptozotocina. La suplementación de kéfir fue capaz de reducir la glucosa plasmática en comparación con el grupo de control.

En un ensayo clínico[16], adultos diabéticos que consumieron 600ml/día de kéfir durante 8 semanas, demostraron un significativo descenso en los niveles de glucosa postprandial y hemoglobina glicosilada (Hb_1Ac) comparados con el estado basal. Adicionalmente, estos mismos parámetros fueron hallados comparándolos con sujetos control.

La ingesta regular de probióticos puede reducir la cantidad de bacterias Gram- en el lumen intestinal y, por lo tanto, disminuir la cantidad de lipopolisacáridos. Además, los probióticos pueden mejorar la función de la barrera intestinal reduciendo así su permeabilidad.
Por lo tanto, la absorción de menores cantidades de lipopolisacáridos puede disminuir el proceso inflamatorio crónico de bajo grado característico de la diabetes. Por otra parte, una disminución en la concentración de lipopolisacáridos, puede restaurar la función de los receptores de insulina que conducen a un mejor control de la glucosa en sangre[17].

De acuerdo con la Organización mundial de la salud (OMS), la prevalencia global de la diabetes es de aproximadamente un 10%, alcanzando un 33% en algunas regiones. La evidencia científica sugiere que un incremento en el estrés inflamatorio está relacionado con mecanismos moleculares produciendo una resistencia a la insulina, y que la microbiota intestinal interacciona con factores ambientales y factores genéticos susceptibles contribuyendo al desarrollo de la diabetes[18].

El embarazo[21,22] está caracterizado por una serie de cambios fisiológicos, metabólicos y de a nivel microbiota intestinal.
Un estudio[22] demostró que la microbiota intestinal en mujeres embarazadas cambia drásticamente durante este periodo.
Durante el embarazo un desajuste en la flora intestinal se asemeja a una disfunción metabólica con un incremento de la inflamación, contenido energético y disminución de la sensibilidad insulínica. El incremento de la resistencia a la insulina puede aumentar la glucosa y la concentración de ácidos grasos libres. Esta disbiosis de la microbiota intestinal puede desarrollar síndromes metabólicos y diabetes gestacional[23].

La diabetes gestacional[19,20] es una complicación médica importante en el embarazo con una incidencia entre un 9,3% y un 25,5% en mujeres embarazadas; está causada principalmente por una resistencia tisular a la insulina en combinación con una inadecuada función de las células beta pancreáticas, resultando en una intolerancia a la glucosa.

La diabetes gestacional se asocia con un aumento de la morbi-mortalidad materna y fetal, tanto en el embarazo como a largo plazo[20]. Las complicaciones en el embarazo incluyen: preeclampsia y el uso instrumental durante el parto, así como un alto porcentaje de cesáreas. Las complicaciones para el neonato incluyen: macrosomía (peso mayor de 4000gr), polihidramnios

(líquido amniótico excesivo), parto prematuro, trauma durante el parto, que incluye distocia de hombros o fractura de clavícula; hiperglucemia e ictericia. Ambos, mujeres con diabetes gestacional y sus hijos, tienen un mayor riesgo de desarrollar diabetes mellitus y otros síndromes metabólicos en el futuro.

Basado en la evidencia[21], un control glucémico óptimo ha demostrado reducir complicaciones en las madres y los neonatos.
Uno de los pilares fundamentales del tratamiento de esta enfermedad es la modificación de los estilos de vida, principalmente dieta y ejercicio físico regular.
Recientemente, diversos estudios[19,24,25] realizados en diferentes países, han demostrado el favorable efecto de la introducción de suplementos probióticos en el control de la glucemia en mujeres embarazadas con diabetes gestacional. Sin embargo, sólo se ha investigado la introducción de una o dos especies de probióticos, además de los valores bioquímicos; sin tener en cuenta si las complicaciones asociadas a la diabetes gestacional cambiaron. Por lo tanto, el propósito de este estudio es evaluar los efectos de la suplementación con kéfir en el control glucémico de la diabetes gestacional, así como, determinar si existe también relación con las complicaciones derivadas pudiendo afectar positivamente a las mismas.

Bibliografía

1. A. Korecka, V. Arulampalam. *The gut microbiome: Scourge, sentinel or spectator?* J Oral Microbiol, 4 (2012), p. 9367

2. M.E. Icaza-Chávez. *Gut microbiota in health and disease*. Revista de Gastroenterología de México, 7(2013), pp. 240-248

3. A.M. O'Hara, F. Shanahan. *The gut flora as a forgotten organ*. EMBO J, 7 (2006), pp. 688-693

4. C. Palmer, E.M. Bik, D.B. DiGiulio, et al. *Development of the human infant intestinal microbiota*. PLoS Biol, 5 (2007), p. e177

5. Belizário, J.E.; Napolitano, M. *Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches*. Front. Microbiol, 6 (2015),pp 1050.

6. Giordiano, M. et al. *Management of SCTE gastroenteritis: Is there a role for probiotics?* I*nt.* J. Environ. Res. Public Health 2019, 16(9), 1649

7. Fijan, S. *Microorganisms with Claimed Probiotic Properties: An Overview of Recent Literature.* Int. J. Environ. Res. Public Health 2014, 11, 4745–4767.

8. Baldassarre, M.E.; Di Mauro, A.; Mastromarino, P.; Fanelli, M.; Martinelli, D.; Urbano, F.; Capobianco, D.; Laforgia, N. *Administration of a Multi-Strain Probiotic Product to Women in the Perinatal Period Differentially Effects the Breast Milk Cytokine Profile and May Have Beneficial Effects on Neonatal Gastrointestinal Functional Symptoms. A Randomized Clinical Trial.* Nutrients 2016, 8, 677.

9. Schrezenmeir J, de Vrese M. *Probiotics, prebiotics, and synbiotics--approaching a definition.* Am J Clin Nutr. 2001 Feb; 73(2 Suppl):361S-364S

10. Yılmaz İ, Dolar ME, Özpınar H. *Effect of administering kefir on the changes in fecal microbiota and symptoms of inflammatory bowel disease: A randomized controlled trial.* Turk J Gastroenterol. 2019;30(3):242–253.

11. Erdogan, FS, Orzaslan, S; Guzel-Seydim, ZB; Kök Tas, T. *The effect of kefir produced from natural kefir grains on the intestinal microbial populations and antioxidants capacities of Balb/c mice.* Food Res Int. (2019) Jan;115:408-413

12. Farnworth, E. *Kefir – a complex probiotic*. Food Sci Technol (N Y) 2, 1–17, (2005)

13. Huseini, HF, Rahimzadeh, G, Fazeli, MR, et al. *Evaluation of wound healing activities of* kefir *products*. Burns 38, 719–723. (2012)

14. Gomes, AC, Bueno, AA, de Souza, RGM, et al. *Gut microbiota, probiotics and diabetes*. Nutr J 13, 60, (2014)

15. Hadisaputro S, Djokomoeljanto RR, Judiono, et al. *The effects of oral plain kefir supplementation on proinflammatory cytokine properties of the hyperglycemia Wistar rats induced by streptozotocin*. Acta Med Indones 44, 100–104, (2012)

16. Ostadrahimi, A, Taghizadeh, A, Mobasseri, M, et al. *Effect of probiotic fermented milk (*kefir*) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial.* Iran J Public Health 44, 228–237. (2015)

17. Rosa, D.D.; Dias, M.M.S.; Grzeskowiak, L.M.; Reis, S.A.; Conceicao, L.L.; Peluzio, M. *Milk kefir: Nutritional, microbiological and health benefits*. Nutr. Res. Rev. (2017), *30*, 82–96

18. Gomes AC, Bueno AA, de Souza RG, Mota JF. *Gut microbiota, probiotics and diabetes*. Nutr J (2014) 13:60.

19. Kijmanawat A, Panburana P, Reutrakul S, Tangshewinsirikul C. *Effects of probiotic supplements on insulin resistance in gestational diabetes mellitus: A double-blind randomized controlled trial.* J Diabetes Investig. 2019;10(1):163–170.

20. Barrett HL, Dekker Niter t M, Conwell LS, Callaway LK. *Probiotics for preventing gestational diabetes.* Cochrane Database of Systematic Reviews 2014, Issue 2. Art. No.: CD009951.

21. Han MM, Sun JF, Su XH, et al. *Probiotics improve glucose and lipid metabolism in pregnant women: a meta-analysis.* Ann Transl Med. 2019;7(5):99.

22. Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, et al. *Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes.* N Engl J Med 2008; 358: 1991–2002

23. Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, Spor A, Laitinen K, Bäckhed HK, Gonzalez A, Werner JJ, Angenent LT, Knight R, Bäckhed F, Isolauri E, Salminen S, Ley RE. *Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy*. Cell. 2012 Aug 3; 150(3):470-80.

24. Laitinen K, Poussa T, Isolauri E. *Probiotics and dietary counselling contribute to glucose regulation during and after pregnancy: a randomised controlled trial.* Br J Nutr 2009; 101: 1679–1687.

25. Karamali M, Dadkhah F, Sadrkhanlou M, et al *Effects of probiotic supplementation on glycaemic control and lipid profiles in gestational diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Diabetes Metab 2016; 42: 234–241.

1. Hipótesis

El uso de suplementación con el probiótico kéfir durante el embarazo regula el metabolismo de la glucosa disminuyendo así las complicaciones derivadas de la diabetes gestacional.

2. Objetivo general

- Determinar la relación entre el consumo de kéfir y el control glucémico en diabetes gestacional

3. Objetivos específicos

- Evaluar los cambios de los parámetros antropométricos en la madre y el neonato de los casos con respecto al grupo control.
- Analizar si los parámetros circulantes marcadores de homeostasis glucídica se ven afectados por el consumo de kéfir.
- Cuantificar el número de complicaciones asociadas a la diabetes gestacional como preeclampsia, macrosomía fetal o hipoglucemia neonatal.

4. Metodología

Se trata de un ensayo clínico de doble ciego, placebo-controlado. Se seleccionarían a 200 mujeres embarazadas diagnosticadas de diabetes gestacional, las cuales se dividirían en dos grupos para recibir 600ml/día de leche fermentada con gránulos de kéfir natural (n=100); o placebo (600ml/día de leche fermentada convencionalmente (yogurt líquido) (n=100).

Se tomarían muestras bioquímicas al inicio del estudio donde se analizaría el estado basal de cada paciente, donde se determinaría la glucemia basal, insulina basal, hemoglobina glicosilada (HbA1c), y el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR), basado éste último en el cálculo entre glucosa e insulina basal.
La diabetes gestacional se diagnostica en la semana 27 de gestación con un test llamado O' Sullivan, el cual se obtiene por una medición de la glucosa basal y tras las administración de una solución enriquecida con 50g de glucosa; si la determinación de la glucosa después de una hora post-ingesta es >140mg/dl, se realizará una curva de glucosa o Test de Sobrecarga Oral de Glucosa, en la cual se determinará la glucemia basal y tras la ingesta de 100g de glucosa, se analizará ésta a los 60,90 y 120 minutos; si al menos dos valores están alterados se confirma el diagnóstico de diabetes gestacional.

La duración del estudio sería de todas aquellas embarazadas diagnosticadas durante un año de diabetes gestacional y, que estén de acuerdo a realizar el estudio, o, en su defecto hasta que se alcance el número de tamaño muestral necesario. A todas y cada una de ellas se le haría un seguimiento hasta finalizar el embarazo considerando un período aproximado de 12 semanas. Por lo tanto, la duración del estudio abarcaría 1 año y 6 meses.

Los criterios de inclusión serían mujeres embarazadas sin ninguna patología previa, sin factores de riesgo añadidos y con un embarazo de bajo riesgo, primigestas, embarazo único, edad gestacional de entre 27-30 semanas, edad natural de entre 18-40 años. Se excluirán aquellas que estén en tratamiento con insulina para el control de la diabetes gestacional, así como mujeres con IMC >30 o <18.

Los participantes serían asignados aleatoriamente a la intervención o placebo mediante un software de aleatorización (RAS). Dos semanas previas a la intervención se aconsejaría a los participantes dejar de tomar cualquier probiótico si lo estuviesen haciendo. Durante las 12

semanas de la intervención, el grupo de casos recibirían 300ml de leche "kefirada" dos veces al día para que ingirieran durante la comida y la cena; al grupo control se le proporcionaría 600ml de leche fermentada convencionalmente (yogur líquido) para tomar durante la comida y la cena. A todas las participantes se le pediría que no modificaran sus estilos de vida, así como la alimentación prescrita por el endocrino o ginecólogo para el control de su enfermedad.

La leche kefirada se obtendrá de la siguiente manera: se dispondrá de un recipiente de cristal en el cual pondremos 100g de gránulos de kéfir y añadiremos 1000ml de leche fresca entera. Dejaremos fermentar durante 24 horas a 20-24 °C; pasado este tiempo colaremos la leche fermentada separándola así de los gránulos y refrigerando a 4 °C. Se puede mantener a esta temperatura durante una semana.
Para la leche fermentada convencionalmente usaremos una marca blanca comercial de sabor natural (yogur líquido).

Para asegurar que las participantes tomarán las dosis de probióticos de acuerdo a lo prescrito, recibirán suministro de kéfir o yogur líquido semanalmente.

Para la determinación de los parámetros antropométricos se usará la misma báscula para todas las embarazadas tipo Seca con una precisión de 0,1kg. Se les pesará con ropa ligera y sin zapatos al inicio de la intervención y en la semana 38 de gestación, la cual sería al final de la intervención. Para la medida se usará un estadiómetro (Seca) con una precisión 0,1cm. Para la determinación del índice de masa corporal (IMC o Índice de Quételet) se calculará usando el peso en kg dividido entre la altura en metros al cuadrado (kg/m2).

Las muestras de sangre para determinar los parámetros bioquímicos se extraerán a todos los participantes tras 10-12 horas de ayuno.

5. **Tamaño muestral:** 200

Según una población aproximada de 1259 mujeres embarazadas pertenecientes al área 3 de Salud de la Región de Murcia (datos proporcionados por el INE), podemos calcular el tamaño de la muestra, con un nivel de confianza del 95% y un margen de error del 5%; el tamaño de la muestra debería ser de 295 participantes. Teniendo en cuenta que no todas las mujeres embarazadas padecen diabetes gestacional, reduciremos el número de muestra a 200.

6. **Diseño del estudio:** Se trata de un ensayo clínico de casos y controles aleatorizado de doble ciego.

7. **Recogida de datos:** se utilizarán medidas bioquímicas mediante recogida pre estudio de muestras de sangre, así como al final del mismo; en las cuales se determinarán lo siguiente:
    - Glucemia basal
    - Hemoglobina glicosilada (HbA1c)
    - Insulina basal
    - Índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR)

Se determinarán parámetros antropométricos como peso, talla, IMC, tanto al inicio como al final del estudio para poder determinar el incremento ponderal de peso durante las 12 semanas de la intervención.
También se recogerán datos demográficos que servirán para la inclusión o exclusión de participantes entre los que se incluyen: edad, edad gestacional, consumo de tóxicos (alcohol, tabaco o drogas), posibles alergias o intolerancias, antecedentes familiares, antecedentes médicos, consumo de medicación actual, primer embarazo y complicaciones previas relacionadas con el mismo.

Se recogerán los siguientes datos respecto al parto y complicaciones, cuando haya concluido la intervención:

- Presencia o no de preeclampsia
- Parto a término o prematuro
- Macrosomía fetal
- Hipoglucemia neonatal
- Parto natural o cesárea
- Uso de instrumental obstétrico
- Determinación de anormalidades en el metabolismo del hierro en neonatos (deficiencia de hierro)
- Determinación de bilirrubina en neonatos

8. Análisis de datos

Se describirá si presenta complicaciones durante el embarazo o al final del mismo, así como el número de ellas, analizándose mediante tablas de contingencia y la aplicación del estadístico Chi-cuadrado.
Para evaluar la normalidad de la distribución de las variables se utilizará el test de Kolmogorov-Smirnov. La T de student se usará para comparar los cambios dentro de los dos grupos antes y después de la intervención, con un intervalo de confianza del 95%.

9. Dificultades y limitaciones de estudio

Una de las limitaciones que podrían aparecer durante la duración del estudio sería la aparición de complicaciones durante el embarazo no relacionadas con la diabetes y el posible abandono por parte de la participante por este motivo. Otra limitación que nos podemos encontrar es en el número de la muestra, ya que el tipo de población que queremos analizar está estrictamente delimitado por los criterios de selección para evitar sesgos.

10. Plan de trabajo

El estudio se realizará de forma longitudinal con una duración de 2 años, y procederá de la siguiente manera:

- Captación de sujetos: 1 año y 6 meses. Se escogerán pacientes que cumplan el perfil citado anteriormente. Fechas: 1 septiembre 2019 hasta 28 febrero 2021.
- Recogida de datos: parámetros bioquímicos, parámetros antropométricos.1 año y 6 meses. Fechas: 1 septiembre 2019 hasta 28 febrero 2021.
- Intervención: durante las 12 semanas posteriores al diagnóstico de diabetes gestacional para cada participante.
- Análisis de los datos, discusión de los resultados y conclusiones: se irán recogiendo y analizando a medida que se vayan obteniendo y hasta 3 meses después de la finalización de la intervención. Fechas:1 septiembre 2019 a 31 mayo 2021.
- Redacción final del estudio: 3 meses. Fechas: 1 junio a 31 agosto 2021

Actividades	2019				2020											
	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Captación de sujetos (aplicación de criterios de inclusión y exclusión)																
Recogida de datos																
Intervención																
Análisis de los datos, discusión de los resultados y conclusiones																
Redacción final del estudio																

Actividades	2021											
	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Captación de sujetos												
Recogida de datos												
Intervención												
Análisis de los datos, discusión y conclusiones												
Redacción final del estudio												

11. Equipo investigador

El equipo investigador estaría formado por:

- Investigador responsable encargado de la recogida de datos, análisis de resultados, redacción final y coordinación de todo el personal implicado en el proyecto.
- Investigadores colaboradores encargados de la captación de los participantes y de la dispensación a los mismos del probiótico o placebo.
- Enfermeros/as responsables de la extracción de la muestra de sangre y medidas antropométricas.
- Técnicos especialistas de laboratorio y facultativo encargados del análisis y validación de los parámetros bioquímicos.
- Facultativos especialistas en ginecología responsables del diagnóstico de diabetes gestacional.
- Matronas responsables a la hora del parto de determinar el estado físico del neonato.

12. Aplicabilidad y utilidad práctica de los resultados

Debido a los antecedentes expuestos anteriormente y los estudios realizados en distintas patologías con probióticos y sus resultados positivos, se podría presuponer que el kéfir podría tener los mismos efectos o incluso más en la diabetes gestacional aportando beneficios tanto a la madre como al feto. Los resultados de la intervención podrían dan lugar a una nueva línea de tratamiento y control de la diabetes gestacional con mejores resultados, disminuyendo por tanto el número de complicaciones e incluso previniendo la enfermedad. Estos resultados podrían suponer una disminución del coste de la sanidad pública, reduciendo el número de ingresos, la terapia farmacológica y la estancia hospitalaria tanto de la madre como del neonato. También podría existir una relación sobre la prevención a largo plazo del desarrollo de diabetes tipo 2 y su sobrecoste.

13. Presupuesto estimado

- **Parámetros antropométricos:** estos parámetros se determinan en la consulta prenatal proporcionados por el Servicio Murciano de Salud, por lo que no supone un coste extra para la investigación
- **Parámetros bioquímicos:** Se pueden determinar en la analítica del segundo trimestre del embarazo, la cual determina la presencia o no de diabetes gestacional. Esta analítica está incluida en el plan de atención a la mujer de la Región de Murcia (PIAM).
- **Determinación de complicaciones y pruebas complementarias al neonato:** No suponen un sobrecoste a la investigación ya que por protocolo se establecen pruebas rutinarias al recién nacido de madre con diabetes gestacional para evaluar su estado de salud.
- **Coste del kéfir:** los gránulos de kéfir se consiguen gratuitamente por donación, teniendo en cuenta que necesitamos 600ml de kéfir diario por participante, procedente de 600ml de leche fresca, la cual estimamos un precio de 0,80 €/litro. Durante un periodo de 12 semanas de intervención a 200 pacientes, nos daría un resultado estimado de 8064€.
- **Coste del placebo (yogur líquido):** el coste del yogur líquido sabor natural de marca blanca estaría en 1,10€/litro. Teniendo en cuenta los mismos datos referentes al kéfir, nos daría un presupuesto aproximado de 11088€.

- **Coste aproximado del trabajo realizado por los investigadores:** Teniendo en cuenta los recursos que pueden ser necesarios como por ejemplo la papelería y el trabajo de campo, podríamos estimar un presupuesto aproximado de 3000€.

En conclusión, deberíamos disponer de un presupuesto estimado de **22152€**

ANEXO 1

Encuesta demográfica para mujeres embarazadas diagnosticadas de Diabetes Gestacional

EDAD: ……..

EDAD GESTACIONAL: ……..

PESO ANTERIOR: …… PESO ACTUAL: ……..
TALLA: ……..

FUMADORA: SI NO

CONSUMO DE ALCOHOL: SI NO
CONSUMO DE DROGAS: SI NO

ALERGIA A MEDICAMENTOS O ALIMENTOS:
…….

ANTECEDENTES FAMILIARES:
……
…….

ANTECEDENTES MÉDICOS (hipertensión, diabetes, enfermedades cardiovasculares…):
……
……
……

TOMA MEDICACIÓN: SI NO
En caso afirmativo, por favor indique los medicamentos que está tomando actualmente:
……
……

PRIMER EMBARAZO: SI NO

¿HA PRESENTADO ALGUNA COMPLICACIÓN EN LAS SEMANAS PREVIAS?
SI NO
En caso afirmativo, por favor indíquelas:
…….
…….
…….

ANEXO 2: RECOGIDA DE DATOS

EDAD: EDAD GESTACIONAL:

Parámetros antropométricos

	Pre-intervención	***Post-intervención***
Peso		
Talla		
IMC		
Incremento ponderal		

Parámetros bioquímicos

	Pre-intervención	***Post-intervención***
Glucemia basal		
HbA_1C		
Insulina basal		
Índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR)		

Datos respecto al parto y posibles complicaciones

	SI	**NO**	**ANOTACIONES**
Preeclampsia			
Parto a término			
Parto natural			
Instrumental obstétrico requerido			
Macrosomía neonatal			
Hipoglucemia neonatal			
Deficiencia de hierro			
Bilirrubina			
Otras complicaciones			

ANEXO 3: CONSENTIMIENTO INFORMADO

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA INVESTIGACIÓN CLÍNICA.

INVESTIGADOR/A RESPONSABLE: Raquel Navarro Pérez, Graduada en enfermería

Teléfono de contacto: xxxxxx **email:** raquel.navarrope@gmail.com

1) Finalidad de la línea de trabajo propuesta.

a) Propósito

Una de las complicaciones más frecuentes durante el embarazo es la aparición de diabetes gestacional. Esta enfermedad está caracterizada por una elevación de la glucemia en sangre, derivada de la cual puede provocar complicaciones tanto a la madre como al bebé. Entre las complicaciones más frecuentes se encuentran: aumento de la tensión arterial, aumento de peso, mayor número de cesáreas, bebés con elevado peso al nacer, entre otras muchas. Actualmente se disponen de diferentes tratamientos farmacológicos para el control de la glucemia durante el desarrollo de esta enfermedad, así como la modificación de los estilos de vida, incluyendo dieta y ejercicio físico; pilares fundamentales del tratamiento.

Los probióticos son "superalimentos" con beneficios para la salud que se llevan utilizando durante mucho tiempo por la humanidad, pero recientes estudios les otorgan numerosas propiedades beneficiosas para la salud como es el caso del control de la glucemia en pacientes diabéticos.

Este estudio pretende demostrar si la introducción de kéfir, un probiótico muy completo, podría resultar beneficioso para el control de su enfermedad y evitar así las complicaciones derivadas de la misma.

b) Tipo de intervención de investigación.

Esta investigación incluirá la realización de una encuesta para determinar si usted es apto o no para la investigación, así como para obtener datos relevantes para el estudio. Además, se le extraerá una analítica de sangre al inicio de la intervención para determinar su estado general respecto a la enfermedad, y otra al final, para comprobar si la intervención del estudio ha resultado satisfactoria. Para la extracción de sangre deberá estar en ayunas un mínimo de 10 horas.

También se observarán las posibles complicaciones que hayan podido surgir o no derivadas de la enfermedad en el momento del parto y se evaluará el estado del niño al nacer. Se aprovechará la sangre de la extracción protocolaria que se realiza al niño al nacer para realizar estudios complementarios referentes a la investigación.

c) Selección de participantes.

Estamos invitando a todas las mujeres embarazadas diagnosticadas de diabetes gestacional que son atendidas en el área 3 de salud de la Región de Murcia (Lorca y pedanías) para participar en la investigación de una nueva línea de tratamiento de la diabetes gestacional.

d) Participación voluntaria.

Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. Tanto si elige participar o no, continuarán todos los servicios que reciba en esta clínica y nada cambiará. Usted puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando haya aceptado antes.

e) Información sobre el kéfir.

El probiótico que estamos utilizando en esta investigación es el kéfir. Es un derivado lácteo muy parecido al yogur batido que se usa habitualmente en la dieta de un gran número de países y cuya utilidad se ha investigado en otras patologías incluyendo la diabetes tipo 2 con positivos resultados; aunque actualmente no se ha utilizado este probiótico en la diabetes gestacional, se ha incluido otras especies de probióticos en la dieta de mujeres embarazadas sin efectos nocivos para la madre ni el feto dando como resultado múltiples beneficios sobre todo a largo plazo para la salud del bebé. Por todo esto, podemos afirmar que es un alimento totalmente seguro de consumir durante el embarazo.

2) **Procedimientos y protocolo**

En este estudio se va a intentar demostrar que el consumo del probiótico kéfir proporciona beneficios para el control de su enfermedad respecto a la ingesta de otro producto que no contiene probióticos, como puede ser el yogur líquido.
Para hacer esto, pondremos a los participantes en dos grupos. Los grupos son seleccionados por azar, al igual como lanzar una moneda al aire.

A los participantes de un grupo se les dará el yogur liquido realizado con kéfir o leche kefirada mientras que los participantes del otro grupo se les dará yogur líquido comercial. Es importante que ni nosotros ni usted sepamos cuál de los dos yogures se le está dando. Esta información estará en nuestros archivos, pero no los miraremos hasta que esté terminada la investigación. Esta es la mejor manera que tenemos para hacer una prueba sin que nos influya lo que pensamos o esperamos que suceda.
Los trabajadores de la salud le estarán observando cuidadosamente y también a los otros participantes durante el estudio. Si existe algo que le preocupes o que le moleste sobre la investigación, por favor hable conmigo.

Se le proporcionará semanalmente kéfir o yogur líquido dependiendo del grupo al que haya sido asignado por lo que deberá acudir a recogerlo. Debe guardarlo en la nevera y tomar 300ml 2 veces al día, una en la comida y otra en la cena.
Podrá seguir con su estilo de vida habitual y no modificar su alimentación durante la duración de la investigación, es muy importante que siga las pautas de alimentación que le haya indicado su médico o endocrino para el control de la diabetes.

3) Duración

La duración total del estudio será de 12 semanas para usted desde que se inicia el proceso de selección de los participantes hasta la finalización del mismo, donde se volverán a extraer analíticas y se comprobarán si hubo o no complicaciones durante el parto; aunque sólo deberá tomar el kéfir o el yogur durante 12 semanas o hasta que dé a luz.

4) **Algunas consideraciones sobre su participación:**

Es importante que Vd., como participante en esta línea de trabajo, conozca varios aspectos importantes:

a) Su participación es totalmente voluntaria. Dentro del proceso de asistencia hospitalaria por su enfermedad, se realizará una encuesta clínica. Esta encuesta no interferirá con los procesos diagnósticos o terapéuticos que usted ha de recibir por causa de su enfermedad.

b) Puede plantear todas las dudas que considere sobre su participación en este estudio.

c) No percibirá ninguna compensación económica o de otro tipo por su participación en el estudio. No obstante, la información generada en el mismo podría ser fuente de beneficios comerciales. En tal caso, están previstos mecanismos para que estos beneficios reviertan en la salud de la población, aunque no de forma individual en el participante.

d) Los datos personales serán tratados según lo dispuesto en la normativa que resulte de aplicación, como es el Reglamento (UE) 2016/679, de 27 de abril. General de Protección de Datos Personales, y su normativa de desarrollo tanto a nivel nacional como europeo.

e) La información obtenida se almacenará en una base de datos, en soporte informático, registrada en la Agencia Española de Protección de Datos, según la legislación vigente.

f) Los datos registrados serán tratados estadísticamente de forma codificada. En todo momento el participante tendrá derecho de acceso, modificación, oposición, rectificación o cancelación de los datos depositados en la base de datos siempre que expresamente lo solicite. Para ello deberá ponerse en contacto con el investigador principal. Los datos quedarán custodiados bajo la responsabilidad del investigador principal del estudio, Dña. Raquel Navarro Pérez. Así mismo, tiene derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no queda satisfecho.

g) Los datos serán guardados de forma indefinida, lo que permitirá que puedan ser utilizados por el grupo investigador principal en estudios futuros de investigación relacionados con la línea del trabajo arriba expuesta. Dichos datos podrán ser cedidos a otros investigadores designados por el Investigador Principal para trabajos relacionados con esta línea, siempre al servicio de proyectos que tengan alta calidad científica y respeto por los principios éticos. En estos dos últimos casos, se solicitará antes autorización al CEI (Comité de Ética de Investigación.

h) La falta de consentimiento o la revocación de este consentimiento previamente otorgado no supondrá perjuicio alguno en la asistencia sanitaria que Vd., recibe/recibirá.

i) Es posible que los estudios realizados aporten información relevante para su salud o la de sus familiares. Vd., tiene derecho a conocerla y transmitirla a sus familiares si así lo desea.

j) Sólo si Vd. lo desea, existe la posibilidad de que pueda ser contactados en el futuro para completar o actualizar la información asociada al estudio.

CONSENTIMIENTO IMFORMADO DEL PACIENTE POR ESCRITO.

Estudio: Efectos de la suplementación con kéfir en el control glucémico de la diabetes gestacional, así como sus complicaciones.

Yo, _____

(nombre y apellidos de paciente o representante legal)

He leído la información que me ha sido entregada.
He recibido la hoja de información que me ha sido entregada.
He podido hacer preguntas sobre el estudio.
He hablado del estudio con Dña. Raquel Navarro Pérez.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera,
- Sin tener que dar explicaciones.
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Por la presente, otorgo mi consentimiento informado y libre para participar en esta investigación.

Una vez firmada, me será entregada una copia del documento de consentimiento

Firma del paciente Nombre y apellidos Fecha

Yo he explicado por completo los detalles relevantes de este estudio al paciente nombrado anteriormente.

Firma del investigador Nombre y apellidos Fecha

APARTADO PARA LA REVOCACION DEL CONSENTIMIENTO (contactar con el investigador principal)

Yo, _____revoco el consentimiento de participación en el estudio, arriba firmado con fecha _____

Firma: