



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN CLÍNICA

PROYECTO TERMINAL

**ASOCIACIÓN DE LA RELACIÓN
FIRMICUTES/BACTEROIDETES DE LA
MICROBIOTA INTESTINAL CON EL PORCENTAJE
DE GRASA E INDICADORES METABÓLICOS EN
JÓVENES UNIVERSITARIOS**

Para obtener el grado de

Maestra en Nutrición Clínica

PRESENTA

L.N. Ana Teresa Nez Castro

Directora

M. en N.C. Arianna Omaña Covarrubias

Codirector

Dr. Luis Guillermo González Olivares

Comité tutorial

Dr. José Alberto Ariza Ortega

Dra. Esther Ramírez Moreno

Dra. Guadalupe López Rodríguez

Pachuca de Soto, Hidalgo., 24 de mayo de 2023



Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar
Presente.

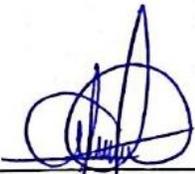
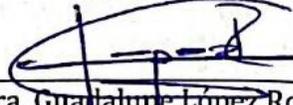
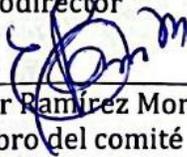
El Comité Tutorial del Proyecto Terminal del programa educativo de posgrado titulado "Asociación de la relación Firmicutes/Bacteroidetes de la microbiota intestinal con el porcentaje de grasa e indicadores metabólicos en jóvenes universitarios", realizado por la sustentante L.N. Ana Teresa Nez Castro con número de cuenta 219006 perteneciente al programa de Maestría en Nutrición Clínica, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

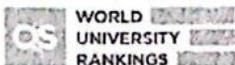
Por lo que la sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"
San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo a 24 de mayo del 2023

El Comité Tutorial

 <hr/> M. en N.C. Arianna Omaña Covarrubias Directora	 INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD UNIV. AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO AREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN	 <hr/> Dr. Luis Guillermo González Olivarez Codirector
 <hr/> Dr. José Alberto Ariza Ortega Miembro del comité	 <hr/> Dra. Guadalupe López Rodríguez Miembro del comité	 <hr/> Dra. Esther Ramírez Moreno Miembro del comité

Circuito ex-Hacienda La Concepción s/n
 Carretera Pachuca Actopan, San Agustín
 Tlaxiaca, Hidalgo, México. C.P. 42160
 Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 4322,4321
 nutricion@uaeh.edu.mx



Agradecimientos

En primer lugar, a la maestra casi doctora Arianna Omaña Covarrubias, por creer en mi cuando ni yo misma lo hacía e impulsarme a ser extraordinaria, ¡Gracias por su apoyo incondicional!, no solamente en toda la odisea en la que se vio implicada este proyecto, sino en todo lo compartido durante los últimos años, tiene todo mi cariño, respeto y admiración.

Al Dr. Luis Guillermo González Olivares, por adoptarme en el momento más crítico del proyecto y ayudarme a sacarlo adelante; gracias por su apoyo desinteresado cuando muchos me dieron la espalda, por compartir su experiencia e impulsarme a continuar con la investigación.

Al Dr. Raúl Agis, que a pesar de no poder terminar junto conmigo este proyecto, me acompañó en gran parte del desarrollo de este, siempre creyó en mí, compartió sus conocimientos y me dio ánimos para continuar a pesar de las adversidades, ¡gracias donde quiera que este!

Gracias a mi familia, madrina/mamá, tío/papá, Chelo, Diego, Naty, Aislinn, mamá y Geras, por brindarme su apoyo, por aguantar mis noches de desvelo y a veces hasta mal humor durante en curso de la maestría, pero que nunca dejaron de creer en mí, en aceptar y apoyarme en mis decisiones, ¡los amo con todo mi corazón!

A mis amigas, Mich, Davs y Adricita, ¡gracias por su empatía!, por frustrarse, enojarse y alegrarse junto conmigo en todo este proceso de la maestría, pero siempre brindándome su apoyo incondicional y acompañándome con un vinito cada que necesitaba un respiro, las quiero con todo mi corazón, son las mejores amigas de la historia.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a mi papá que, a pesar de ya no acompañarme físicamente desde hace 19 años, sigue siendo, en toda la extensión de la palabra, ese gran Ángel, cuya esencia me acompaña todo el tiempo, este logro va por ti, por ser siempre mi modelo a seguir para crecer y superarme como profesionista y como ser humano, porque como siempre nos lo dijiste, la mejor herencia que nos pudiste haber dejado es la educación y la atesoraré toda la vida, ¡te amo por siempre!

Índice

Oficio de autorización de impresión.....	2
Agradecimientos	3
Índice de tablas	6
Índice de figuras	6
Resumen	7
1. Marco Teórico	8
1.1 Antecedentes	8
1.2 Microbiota intestinal	11
1.2.1 Principales bacterias presentes en el tracto intestinal	14
1.2.1.1 Firmicutes	16
1.2.1.2 Bacteroidetes	17
1.2.2 Funciones de la microbiota intestinal.....	17
1.3 Microbiota intestinal y estado nutricional.....	18
1.3.1 Composición corporal y microbiota intestinal.....	19
1.3.2 Alteraciones metabólicas y microbiota intestinal.....	22
1.3.3 Dieta y microbiota intestinal	23
2. Problema de investigación	26
3. Hipótesis.....	27
4. Justificación.....	28
5. Objetivos	29
5.1 Objetivo General	29
5.2 Objetivos Específicos	29
6. Diseño Metodológico	30
6.1. Tipo de estudio.....	30
6.2. Población y muestra	30
6.2.1 Cálculo de muestra	30
6.2.2 Criterios de inclusión	31
6.2.3 Criterios de exclusión	32
6.2.4 Criterios de eliminación.....	32
6.2.5 Diagrama del estudio.....	33
6.3. Variables.....	33

6.4 Procedimiento e instrumentos de recolección de información	34
6.5 Plan de análisis estadístico	37
6.6 Aspectos éticos de la investigación	37
7. Resultados	39
7.1 Características generales de la población de estudio	39
7.2 Determinación de IMC y grasa corporal	40
7.3 Análisis de parámetros metabólicos.....	41
7.4 Extracción de DNA de heces	42
7.5 Volumen de <i>Firmicutes</i> y <i>Bacteroidetes</i> por grupo de estudio	45
7.6 Relación F/B por grupo de estudio	46
7.7 Asociación de la relación F/B con parámetros bioquímicos y porcentaje de grasa en grupos clasificados por porcentaje de grasa	46
7.8 Asociación de la relación F/B con parámetros bioquímicos y porcentaje de grasa en grupos clasificados por IMC	47
8. Discusión	52
8.1 Evaluación antropométrica	52
8.2 Evaluación bioquímicos	52
8.3 Relación F/B	53
8.4 Interacción glucosa y relación F/B	55
8.5 Perfil lipídico y relación F/B	56
8.6 IMC, porcentaje de grasa y relación F/B.....	58
9. Conclusión	61
Referencias.....	63
ANEXOS.....	70
Anexo 1. Carta de consentimiento informado	70
Anexo 2. Protocolo de extracción y purificación de las muestras de heces con el Rapid Genomic DNA Extraction Kit.....	71
Anexo 3. Dictamen del comité de ética	72
Anexo 4. Volúmenes de <i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidetes</i> y relación <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> por grupos de estudio clasificados por IMC.....	73
Anexo 5. Volúmenes de <i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidetes</i> y relación <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> por grupos de estudio clasificados por % de masa grasa.....	75

Índice de tablas

Tabla 1. Resultados obtenidos en estudios previos sobre asociación de microbiota intestinal y composición corporal.....	9
Tabla 2 Microorganismos predominantes en el tracto intestinal humano.....	15
Tabla 3. Rangos normales de porcentaje de grasa en el cuerpo de acuerdo con género.....	19
Tabla 4. Operacionalización de variables.....	33
Tabla 5. Reactivos empleados para la amplificación del DNA por PCR.....	36
Tabla 6. Frecuencia de edad, género y grupos de estudio.....	39
Tabla 7. Análisis descriptivo para indicadores metabólicos.....	41
Tabla 8. Pureza e integridad de los extractos de DNA.....	43
Tabla 9. Medias y desviación estándar del volumen de banda del amplificado de Firmicutes y Bacteroidetes por grupos de estudio.....	45
Tabla 10. Comparación de medias del volumen de Firmicutes y Bacteroidetes de los grupos de estudio clasificados por IMC y % de masa grasa.....	46
Tabla 11. Medias y rangos de la relación Firmicutes/Bacteroidetes por IMC y porcentaje de masa grasa.....	46
Tabla 12. Coeficientes de correlación y determinación entre la relación F/B, indicadores metabólicos y porcentaje de masa grasa en grupos normopeso, sobrepeso y obesidad, clasificados por porcentaje de masa grasa.....	47
Tabla 13. Coeficientes de correlación y determinación entre la relación F/B, indicadores metabólicos IMC en grupos normopeso, sobrepeso y obesidad clasificados por IMC.....	48

Índice de figuras

Figura 1. Variación de la microbiota intestinal, composición, cantidades a lo largo del tracto gastrointestinal y características que dan forma a la MI en las diferentes regiones anatómicas del intestino.....	14
Figura 2. Esquema de las principales rutas metabólicas de poli y oligosacáridos en el ecosistema gastrointestinal.....	25
Figura 3. Diagrama de la población de estudio y etapas de selección de muestra.....	33
Figura 4. Condiciones de amplificación para muestras de DNA extraído.....	36
Figura 5. Frecuencia de grupos por IMC.....	40
Figura 6. Frecuencia de grupos por Porcentaje de Grasa Corporal.....	41
Figura 7. Prueba de electroforesis de las eluciones obtenidas a partir de la extracción y purificación de DNA de heces de jóvenes universitarios. De arriba hacia abajo y de izquierda a derecha: muestras de los individuos 1 hasta el 42.....	42
Figura 8. Análisis por componentes del grupo Normopeso.....	49
Figura 9. Análisis por componentes del grupo Sobrepeso.....	50
Figura 10. Análisis por componentes del grupo Obesidad.....	51

Resumen

La microbiota intestinal es un factor que durante la última década, ha sido relacionado con el incremento de la masa grasa debido a su influencia sobre el control de la permeabilidad intestinal, desconjugación de las sales biliares, liberación de hormonas intestinales e inhibición del factor de adiposidad inducido por ayuno (FIAF), condiciones que fomentan la extracción energética de la dieta, es así que, la microbiota intestinal ha sido parte de los estudios que relacionan los factores de cambio nutricional en el tratamiento del sobrepeso y obesidad. No obstante, los estudios reportados no han sido determinantes en la relación que existe entre disbiosis y obesidad. Es por ello que el objetivo de este trabajo de investigación fue conocer la asociación de la relación Firmicutes/Bacteroidetes de la microbiota intestinal con el porcentaje de grasa, glucosa, triglicéridos, colesterol total y c-HDL en 70 universitarios de entre 18 y 25 años mediante un estudio observacional, transversal y comparativo. Los participantes fueron seleccionados por muestreo estratificado y caracterizados en 3 grupos de estudio: normopeso (29.5%), sobrepeso (27.4%) y obesidad (43.2%), quienes presentaron cifras de glucosa (83.91 ± 5.78) y colesterol (172.71 ± 29.73) total adecuados, mientras que llegaron a encontrarse con valores elevados de triglicéridos (116.35 ± 83.77) y disminuidos de c-HDL (57.74 ± 11.56 para mujeres y 51.38 ± 7.88 en hombres). La relación F/B encontrada fue de 1.05 ± 0.90 para normopeso, 1.17 ± 0.94 para sobrepeso y para obesidad de 1.33 ± 0.68 . Finalmente, tras establecer asociación mediante un modelo de regresión lineal, entre la relación F/B, indicadores metabólicos y porcentaje de grasa, ésta resultó estadísticamente no significativa ($p > 0.05$) con una fuerza de asociación baja ($R < 0.5$), concluyendo que deben tomarse en consideración factores como el tipo de dieta, nivel de actividad física y salud cardiovascular para lograr establecer relaciones significativas entre la disbiosis, composición corporal e indicadores metabólicos.

Palabras clave: microbiota intestinal, grasa corporal, indicadores metabólicos, universitarios

1. Marco Teórico

1.1 Antecedentes

La población universitaria está comprendida por jóvenes de entre los 18 y 25 años de edad (1) misma que se caracteriza por estar expuesta a una serie de modificaciones fisiológicas propias de la juventud. Estos cambios fisiológicos están acompañados de cambios sociales, económicos y culturales, los cuales a su vez están relacionados con el abandono del hogar, debido al comienzo de los estudios universitarios e inicio de la vida adulta (2). Todo este conjunto de factores impacta en el estilo de vida, favoreciendo la práctica de malos hábitos tanto alimenticios como sociales (sedentarismo). Esto conlleva a condiciones que promueven el desarrollo del sobrepeso y la obesidad (1).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define al sobrepeso y la obesidad como “una acumulación anormal o excesiva de grasa que supone un riesgo para la salud” (3) y surge como consecuencia del desequilibrio entre la ingesta de alimentos y el gasto energético. La presencia de estas condiciones, incrementa el riesgo de desarrollar diferentes tipos de enfermedades no transmisibles como: hipertensión, infartos, ciertos tipos de cáncer, depresión, disfunciones músculo-esqueléticas y trastornos respiratorios. Es por ello que se ha considerado a estos padecimientos como un problema de salud pública, al ser causa de muerte prematura en la población mayor a 20 años (4). Por ello es de suma importancia reconocer los factores que conllevan a esta condición fisiológica y que derivan en el padecimiento. De acuerdo con cifras reportadas en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2018, el promedio de población adulta que tiene un exceso de peso es del 75.2% en México (4). Para el estado de Hidalgo la reportó que, en adultos mayores a 20 años, el 41.5% y 27.4% de las mujeres, presentan sobrepeso y obesidad, respectivamente; mientras que, en los hombres, un 40.7% de estos padece de sobrepeso y el 19.1% obesidad (5). Por otro lado, en un estudio realizado en 2014 por González et al., en donde se evaluó la prevalencia de obesidad en jóvenes universitarios (18-24 años), se reportaron prevalencias del 28.4% de sobrepeso y 11.1% de obesidad en los hombres; así como, del 19% y 10.6% de sobrepeso y obesidad, respectivamente, en el caso de las mujeres (1). En otro estudio realizado por Gómez-Landeros et al en 2017, fueron evaluados estudiantes universitarios, con el objetivo de determinar prevalencias de sobrepeso, obesidad y antecedentes de enfermedades no transmisibles, se encontró que el 56.16% de los hombres presentaba sobrepeso y el 29.23%

obesidad; en el caso de las mujeres el sobrepeso se presentó en 23.45% y la obesidad en un 10.34% (6).

La evidencia actual señala a la microbiota intestinal como uno de los principales factores involucrados en la acumulación de grasa corporal. Esto en virtud de las funciones en la regulación metabólica, digestión, homeóstasis energética e inflamación que efectúa en el hospedero (7). De esta manera se ha demostrado que la composición de la microbiota intestinal se encuentra alterada en personas con sobrepeso y obesidad, en comparación con sujetos normopeso. Se ha comprobado que esta alteración (disbiosis) está relacionada principalmente por una disminución en el filo *Bacteroidetes* y un incremento en el filo *Firmicutes* (8). Un resumen de los estudios realizados en este sentido se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados obtenidos en estudios previos sobre asociación de microbiota intestinal y composición corporal.

Autores	Tipo de estudio	Tamaño de muestra	Caracterización de la muestra	Resultados
Kasai et al. 2015	Transversal	56	23 sujetos IMC <20 kg/m ² 33 sujetos con IMC ≥25 kg/m ² Submuestra: 4 no obesos y 6 obesos	La diversidad microbiana fue significativamente mayor en sujetos con obesidad, comparada con sujetos sin obesidad. Se encontró un número reducido de <i>Bacteroidetes</i> y una elevada proporción de F/B en sujetos obesos comparada con sujetos no obesos
Haro et al. 2016	Transversal	75	39 hombres y 36 mujeres, caracterizados en 3 grupos: 1) IMC <30 kg/m ²	La proporción de F/B varió de acuerdo con el IMC y el género Hombres con IMC 33 kg/m ² presentaron mayor proporción F/B; mientras que los hombres presentaron una proporción F/B

			2) IMC <33 kg/m ² 3) IMC <33 kg/m ²	significativamente menor que las mujeres con IMC >33 kg/m ² . De manera general, en presencia de IMC >33 kg/m ² , los Bacteroidetes se encontraron elevados en mujeres y reducidos en hombres.
Lin et al. 2015	Transversal	659	Adultos chinos sanos 281 normopeso 304 sobrepeso 55 obesidad	No se encontró asociación entre la población bacteriana y el IMC
Angelakis et al. 2015	Transversal	10	5 IMC = 20.7 kg/m ² 5 IMC = 36.8 kg/m ²	Los grupos con mayor abundancia en ambos grupos fueron Firmicutes y Actinobacterias. Los sujetos con obesidad presentaron mayor proporción de géneros anaeróbicos y menos aeróbicos.
Murugesan et al. 2015	Transversal	190	190 niños mexicanos (9-11 años) 81 normopeso 29 sobrepeso 80 obesidad	No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la abundancia de los filos.
Ignacio et al. 2016	Transversal	84	Niños (3-11 años) 30 normopeso 24 sobrepeso 30 obesidad	B. fragilis y Lactobacillus spp, fueron encontrados en mayor concentración en niños con sobrepeso y obesidad, en comparación con los normopeso, por lo que se encontró una relación positiva entre el IMC y la proporción de bacterias.

Hu et al. 2015	Transversal	134	Adolescentes Coreanos (13-16 años)	No se encontraron diferencias significativas en las poblaciones de Bacteroidetes, Firmicutes y Proteobacteria entre adolescentes normopeso y con obesidad. La proporción de Bacteroides fue más elevada en el grupo normopeso (45%), mientras que en los obesos fue del 25%.
-------------------	-------------	-----	--	--

Adaptado de: Castaner, O; Goday, A; Park, YM; Lee, SH; Magkos, F; Toh Ee Shiew, SA and Schroder, H. The gut microbiota profile in obesity: A systematic review. *International Journal of Endocrinology*; 2018, 1-9.

1. 2 Microbiota intestinal

La microbiota intestinal es un conjunto de microorganismos que colonizan el tracto gastrointestinal y se encuentran en mayor proporción que las células del cuerpo humano (9). Diversos estudios señalan que la microbiota está directamente asociada con la salud del hospedero. Pero también está relacionada con algunas enfermedades debido a la diversidad de microorganismos que la convierte en el agente ambiental más importante en el cuerpo humano (10). A pesar de las evidencias en la relación de la microbiota intestinal y los parámetros de diversas enfermedades (11) es necesaria más investigación para evaluar otros factores, reconociendo hasta el momento algunos como la interacción entre la genética del hospedero, la dieta y la regulación del metabolismo (11).

La microbiota intestinal proporciona diversos beneficios y da resistencia a la colonización de nuevas especies manteniendo una relación simbiótica con el ser humano. Sin embargo, un desequilibrio en esta comunidad tan compleja podría conducir a una recolonización por microorganismos patógenos, derivar en procesos inflamatorios y en la evolución de diversas enfermedades (12). Esto sugiere que la microbiota intestinal mantiene la homeostasis del intestino humano (13) al brindar protección contra patógenos, digerir polisacáridos, regular el almacenamiento de grasa, producir vitaminas esenciales y modular la respuesta inmune, lo cual la convierte en un agente ambiental de gran importancia (14).

En este sentido, la colonización del tracto gastrointestinal comienza durante el parto tras el paso por el canal vaginal. Es ahí donde los lactantes están expuestos a una población microbiana compleja y se ha puesto de manifiesto que la microbiota intestinal de los lactantes y la microbiota vaginal de las madres guardan muchas similitudes. Esta evidencia está soportada por el hecho de que los bebés nacidos por cesárea difieren en la composición microbiana con aquellos niños nacidos por parto natural (15).

Las primeras bacterias encargadas de colonizar en el momento de nacimiento, son bacterias anaerobias facultativas, estreptococos y coliformes. Posteriormente predominarán las bacterias anaerobias estrictas de los géneros *Clostridium*, *Bacteroides* y *Bifidobacterium*. Siendo *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* y *Lactobacillus*, las cuales son las bacterias colonizadoras durante las primeras semanas del nacimiento y que además coinciden con los grupos bacterianos representativos en la leche materna (16). De tal manera que la alimentación del lactante también influye en la composición de la microbiota intestinal I, ya que la leche materna contiene oligosacáridos con función prebiótica y un rol primordial en la promoción del crecimiento de *Bifidobacterias* y *Bacteroides*, bacterias esenciales al inicio de la alimentación complementaria, permitiendo la estabilidad del tracto gastrointestinal durante esta etapa (15)

De hecho, se ha evidenciado que aquellos niños alimentados con leche materna tienen mayor cantidad de bifidobacterias y menor cantidad de *Clostridium difficile* y *Escherichia coli*, bacterias que se encuentran en mayor abundancia en los niños alimentados con fórmula láctea. Posteriormente, durante la niñez, la microbiota intestinal se mantiene relativamente estable, ya que sufre modificaciones mínimas, mientras que en la pubertad y en la vida adulta alcanza su mayor diversidad y complejidad, con cientos de especies principalmente pertenecientes a los filos Firmicutes y Bacteroidetes (15).

Durante la etapa adulta, la diversificación de la microbiota intestinal en cada individuo es condicionada por factores ambientales, dieta, higiene, genotipo y el uso de antibióticos, considerado como uno de los factores más importantes en la modificación bacteriana, pues el uso excesivo de estos ha sido relacionado con el incremento de bacterias patógenas resistentes que generan una alteración en la microbiota intestinal una vez concluido el tratamiento farmacológico (8,17). Adicionalmente, la composición estará determinada

también por los trastornos patológicos como infecciones gastrointestinales y sistémicas, así como el uso de agentes farmacológicos como antibióticos, laxantes, procinéticos y probióticos (18).

Además, durante la vejez, se ha observado que hay una reestructuración en la microbiota intestinal, Claesson y colaboradores observaron cambios significativos en sujetos mayores de 65 años de edad, específicamente un aumento en la abundancia de Bacteroidetes y Proteobacterias (19). Se ha planteado la hipótesis de que las alteraciones en la microbiota al llegar a la vejez se deben principalmente a cambios fisiológicos en el tracto gastrointestinal, tales como disminución de las contracciones esofágicas y de los movimientos peristálticos, alteración en el revestimiento gástrico y fibrosis; la presencia de inflamación crónica de bajo grado y los hábitos alimenticios (20). Los componentes de la microbiota intestinal se han ido adaptando y conviviendo con el ser humano de manera simbiótica. Esto se debe a que su equilibrio ejerce funciones dentro del metabolismo de los nutrientes del huésped desde mantenimiento estructural de la barrera de la mucosa intestinal y de inmunomodulación hasta protección contra agentes patógenos (21). Por otro lado, los microorganismos obtienen del hospedero los nutrientes y las condiciones adecuadas para su crecimiento (21). Sin embargo, cuando esta la microbiota/huésped se altera (disbiosis) es posible que interfiera con las funciones antes mencionadas y conduzca al desarrollo de enfermedades. Es por ello que la disbiosis ha sido empleada como un marcador diagnóstico (22).

El equilibrio se obtiene una vez que los nutrientes son adquiridos a través de la dieta. Los principales sustratos disponibles para la microbiota intestinal son hidratos de carbono incluyendo: almidones resistentes, fibra dietética (celulosa, hemicelulosa, pectina, inulina), azúcares no absorbibles, alcoholes de azúcar, proteínas provenientes de la dieta, proteínas de enzimas pancreáticas, secreciones gastrointestinales, moco y células epiteliales descamadas (22). Todos estos nutrientes son empleados para el desarrollo de la homeostasis y protección contra patógenos, a tal punto que algunos investigadores la refieren como un “órgano extra” del huésped con elevada actividad metabólica, razón por la cual, se ha establecido una asociación de la microbiota intestinal con la homeostasis energética (23).

Se estima que dicha actividad metabólica es equivalente a la del hígado. Esto se debe en gran parte porque los metabolitos encontrados a nivel circulante o en la orina son de origen

bacteriano. Además, prácticamente todas las moléculas que llegan al colon tanto las endógenas y las dietarias como las xenobióticas, pueden ser metabolizadas por la microbiota intestinal gracias a la gran heterogeneidad que existe en las diversas actividades enzimáticas derivadas de la heterogeneidad microbiana (24). En la figura 1 se esquematiza la variación existente en la composición de la microbiota intestinal.

1.2.1 Principales bacterias presentes en el tracto intestinal

La distribución de la microbiota intestinal a lo largo del tubo digestivo no es homogénea, ya que se coloniza en gradiente proximal-distal. Es decir, las concentraciones de microorganismos son bajas en duodeno y aumentan paulatinamente en el yeyuno e íleo. Sin embargo, la máxima concentración se alcanza en el colon (25), siendo esta última porción la parte del tubo digestivo con mayor actividad metabólica (8).

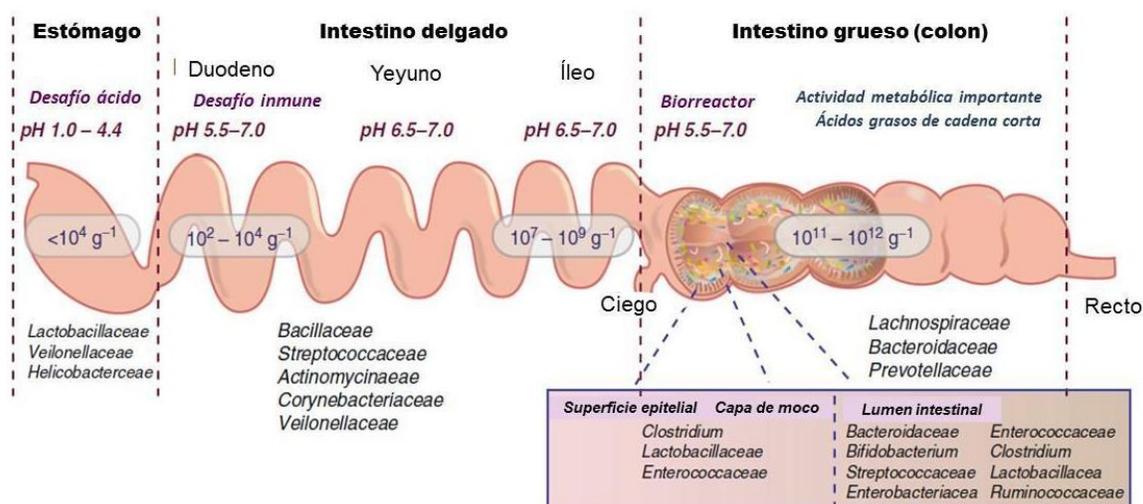


Figura 1. Variación de la microbiota intestinal, composición, cantidades a lo largo del tracto gastrointestinal y características que dan forma a la microbiota intestinal en las diferentes regiones anatómicas del intestino. Adaptado de: Kovatcheva-Datchary, P. (24)

Complementariamente, se sabe que las bacterias comúnmente encontradas en el intestino corresponden a tres grandes filos: *Firmicutes* del 40-60% (Gram-positivos), *Bacteroidetes* 20-40% (Gram-negativos) y *Actinobacterias* >10% (Gram-positivos) (tabla 2).

Tabla 2. Microorganismos predominantes en el tracto intestinal humano

Porción del tracto intestinal	UFC / g de contenido intestinal	Filos de bacterias	Tipo de tinción
Duodeno	$10^3 - 10^4$ UFC / g de contenido intestinal	<i>Bacteroides</i> (Filo: <i>Bacteroides</i>) <i>Lactobacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Streptococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Staphylococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)	Gram-negativos Gram-positivos Gram-positivos Gram-positivos
Yeyuno	$10^5 - 10^7$ UFC / g de contenido intestinal	<i>Bacteroides</i> (Filo: <i>Bacteroidetes</i>) <i>Lactobacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Streptococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Bacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)	Gram-negativos Gram-positivos Gram-positivos Gram-positivos
Íleon	$10^7 - 10^8$ UFC / g de contenido intestinal	<i>Bacteroides</i> (Filo: <i>Bacteroidetes</i>) <i>Clostridium</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Enterococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Lactobacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Veillonella</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)	Gram-negativos Gram-positivos Gram-positivos Gram-positivos Gram-negativos

Colon	10 ¹⁰ - 10 ¹¹ UFC / g de contenido intestinal	<i>Bacteroides</i> (Filo: <i>Bacteroidetes</i>)	Gram-negativos
		<i>Bacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)	Gram-positivos
		<i>Clostridium</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)	Gram-positivos
		<i>Enterococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)	Gram-positivos
		<i>Eubacterium</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)	Gram-positivos
		<i>Peptostreptococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)	Gram-positivos
		<i>Ruminococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)	Gram-positivos
		<i>Streptococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)	Gram-positivos

Adaptado de: Tinahones, F. (17)

En estudios realizados se ha demostrado que entre los filos con mayor abundancia en el intestino se encuentran *Actinobacterias*, *Fusobacterias* y *Verrucomicrobia* (26). Sin embargo, en la microbiota intestinal saludable predominan los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. Además, se ha observado que una alteración en su relación interviene en la predisposición a enfermedades (26).

1.2.1.1 *Firmicutes*

Los *Firmicutes* son un componente representativo de la microbiota intestinal y este conjunto de microorganismos es el de mayor proporción. Este filo, conformado por 26 familias y 223 géneros, comprende tres clases: *Micoplasma*, *Bacillus* y *Clostridium* (27). Las bacterias que lo conforman son bacterias Gram-positivas e incluyen diferentes grupos filogenéticos, predominando *Clostridium*, *Eubacterium*, *Roseburia* y *Ruminococcus*. Dentro de ellos *Eubacteria rectale* y *Roseburia spp* destacan como importantes productores de butirato. Estas especies comprenden del 5 al 10% del total de la microbiota intestinal (24).

Las bacterias pertenecientes a este filo poseen una pared celular rígida con ácido murámico en su composición, se presentan en diversos fenotipos con características especiales pudiendo ser esféricas, helicoidales o filamentosas. Además, estructuralmente pueden o no contener flagelos. Estos microorganismos son aerobios facultativos, algunos de ellos pueden ser termófilos, productores de endosporas, resistentes a la desecación y crecen mayoritariamente en pH neutro (28). Es importante mencionar que este filo destaca por su eficacia en el proceso de extracción de energía, a partir de fibra insoluble que consecuentemente genera ganancia de peso, debido a que el incremento de energía en las células periféricas favorece al proceso de adipogénesis (23).

1.2.1.2 Bacteroidetes

Este filo está conformado por bacterias Gram-negativas y se compone por 3 clases: *Bacteroides*, *Prevotella* y *Porphyromonas* (24). No son formadoras de endosporas y pueden ser anaerobias facultativas o aerobias estrictas (29).

Este grupo de microorganismos interviene en la activación del sistema inmune, al producir la activación de respuestas mediadas por células T. Además, de controlar la colonización de bacterias patógenas también emplean polisacáridos y carbohidratos como sustratos generando residuos que son reabsorbidos por el huésped para producir energía. Después de este proceso fermentativo se generan ácidos grasos de cadena corta entre los que se encuentra el butirato, el cual ha sido relacionado a propiedades antineoplásicas (30).

1.2.2 Funciones de la microbiota intestinal

La microbiota intestinal mantiene una simbiosis con su hospedero, pues han sido establecidos algunos procesos metabólicos en los que ésta promueve beneficios para él. Dentro de estos beneficios se encuentra principalmente la extracción energética a partir de la fermentación de hidratos de carbono insolubles y procesamiento de xenobióticos (15). Este proceso se lleva a cabo de “manera normal” y es por ello que se le ha clasificado como un órgano con capacidad metabólica independiente e importante. El filo *Bacteroidetes* es el encargado de llevar a cabo esta fermentación de los hidratos de carbono (26).

Gracias a las enzimas activas (CAZymes) contenidas en las bacterias de la microbiota intestinal se puede llevar a cabo la fermentación de polisacáridos complejos de la dieta, los

cuales no son digeridos ni absorbidos por el intestino humano (30). Una vez fermentados, estos carbohidratos son transformados en monosacáridos y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) principalmente acetato, propionato y butirato. Tanto el acetato como el propionato son rápidamente absorbidos por las células epiteliales intestinales y pasan a la circulación portal. Por su parte el butirato, el cual es producido principalmente por el filo *Firmicutes*, es empleado por los colonocitos como fuente de energía. Estos AGCC pueden ser transportados al hígado para ser usados en la síntesis lipídica e incluso, se estima que las calorías resultantes de esta digestión bacteriana conforman alrededor del 10% del total de la energía absorbida. Además, parece ser que la microbiota intestinal es capaz de modular los genes que afectan la disposición de energía en los adipocitos (23).

Algunas bacterias colónicas como: *Bacteroides* spp. y *Ruminococcus* spp., inician la descomposición de sustratos insolubles. Por otra parte, los oligosacáridos como los fructooligosacáridos, galactooligosacáridos y la inulina, son preferencialmente fermentados por *Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus* spp. Además, un número de bacterias pertenecientes al grupo *Clostridium* conforman el grupo de productoras de butirato ya que su mayor producto de fermentación es el ácido butírico (24).

Así mismo, las bacterias del intestino participan en la depuración de toxinas provenientes de la dieta. El metabolismo de estas bacterias deriva en la síntesis de micronutrientes como vitamina K, vitamina B12 y ácido fólico. De igual manera se incrementa la absorción de electrolitos y minerales (27) y se logra la síntesis de ácido linoleico conjugado con actividad anti diabética, antiaterogénica e hipolipemiante (26).

1.3 Microbiota intestinal y estado nutricional

La microbiota intestinal ha sido considerada como un nuevo factor implicado en la regulación del peso corporal, específicamente por promover la acumulación de grasa corporal. Esta condición se genera por el desequilibrio energético, el estado inflamatorio y la función de la barrera intestinal. Todo ello es derivado del incremento de la extracción de energía que una vez absorbida pasa rápidamente a circulación portal y participa en la lipogénesis *de novo*, que a su vez promueve la acumulación de grasa en hígado y tejido adiposo (8). De igual manera, ha sido asociada con diversas funciones fisiológicas importantes del huésped. Entre

ellas se encuentra el metabolismo de los nutrientes, principalmente la fermentación de fibras, este proceso se ve afectado por cambios en el estilo de vida y la dieta, lo cual impacta directamente sobre la composición de la microbiota intestinal y repercute en procesos de homeostasis energética (29).

Lo anterior ha sido demostrado por medio de ensayos controlados, en los que se ha determinado que una mayor presencia de ácidos grasos de cadena corta, producto de la fermentación de fibras, se correlaciona con una menor resistencia a la insulina. Así mismo, los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) participan como metabolitos en procesos como el metabolismo de colesterol y lipogénesis en tejidos periféricos, esto es un factor a considerar en el proceso de salud-enfermedad en la población y por ende repercute en el estado nutricional de la misma (31)

1.3.1 Composición corporal y microbiota intestinal

El análisis de los tejidos es un recurso que ha sido utilizado desde hace mucho tiempo y ha contribuido de manera importante al conocimiento actual de la fisiología y el metabolismo humano (32). Es así que se ha puesto la composición corporal como un indicador de la acumulación promedio de nutrientes y otras sustancias provenientes de los alimentos consumidos (33).

En este sentido, se sabe que la grasa corporal constituye aproximadamente del 8 al 33% del peso corporal en humanos en condiciones normales, variando de acuerdo con su estado de nutrición (34). En la edad adulta, esta proporción cambia y se pueden observar diferencias en la proporción de grasa entre mujeres y hombres (Tabla 3).

Tabla 3. Rangos normales de porcentaje de grasa en el cuerpo de acuerdo con género

Género	Edad	Saludable	Alto en grasa	Obesidad
Hombres	18-39	8-20%	20-25%	>25%
Mujeres	18-39	21-33%	33-39%	>39%

Fuente: Adaptado de Ladino Meléndez (34)

Los primeros estudios sobre composición corporal humana fueron basados en el análisis químico de órganos específicos. A partir de estas mediciones se definió el modelo de compartimentalización del organismo, el cual subdivide al cuerpo en dos componentes

principales: la masa grasa (MG) y la masa libre de grasa (MLG). Con estos dos valores se conoce la masa corporal total (MCT) (32), a través de la siguiente ecuación: $MCT = MG + MLG$.

El modelo bicompartimental (2C), es el modelo básico para determinar composición corporal, este ha sido utilizado desde hace poco más de 50 años y sigue teniendo un papel importante en la investigación de nuevas tecnologías para la evaluación de la MG (35).

Por su parte, el tejido adiposo es un órgano fundamental en la regulación de la homeostasis energética al encargarse del almacenamiento de la energía excedente en el organismo. Esta energía se almacena en forma de triglicéridos en los adipocitos, los cuales sufren de hiperplasia e hipertrofia para incrementar la capacidad de almacenamiento y mantener un reservorio energético (35). Esta energía almacenada, es movilizada para proporcionar ácidos grasos durante la producción de energía. Esta función es similar a la que llevan a cabo el hígado y el músculo esquelético (36).

En individuos normopeso, gran parte de este tejido adiposo se concentra en los depósitos subcutáneos. Sin embargo, cuando se ve excedido este depósito se comienzan a generar depósitos en otros tejidos, principalmente en la zona visceral en la cual la grasa presenta una elevada actividad metabólica, incrementando el riesgo a desarrollar diversos padecimientos: hiperinsulinemia, dislipidemias, arteriosclerosis y síndrome metabólico (36).

Estudios realizados en los últimos diez años, han sugerido que la microbiota que coloniza el intestino humano desempeña un papel significativo como nuevo factor implicado en la obesidad y a sus enfermedades asociadas como la diabetes. Además, se ha reconocido como un factor que une genes, medio ambiente y sistema inmunológico al intervenir en la extracción energética de los alimentos, el metabolismo de ácidos grasos, la síntesis de hormonas intestinales involucradas en la homeostasis energética y la regulación de los depósitos corporales de tejido adiposo (37).

Todo esto se debe a que en el sobrepeso y la obesidad se desarrolla un estado de disbiosis que interviene en la señalización hormonal y que controla el apetito. Esto es derivado a la inducción de cambios en los niveles plasmáticos de GLP-1 y PYY, quienes afectan al núcleo arqueado hipotalámico y con ello modulan el apetito. También ha sido observado que la

microbiota intestinal afecta las concentraciones de leptina y ghrelina (38). La leptina se ve incrementada en razón de un incremento de bacterias pertenecientes al filo *Firmicutes*; mientras que la ghrelina se encuentra incrementada con la abundancia de bacterias pertenecientes al filo *Bacteroidetes* (40).

Así es que, la obesidad ha sido asociada con el incremento en la presencia elevada de bacterias pertenecientes al filo de los *Firmicutes* y reducciones proporcionales en la presencia de *Bacteroidetes* (31). Incluso se ha observado que las proporciones de bacterias tienden a modificarse al presentarse una pérdida de peso, siendo consistente incluso en modelos animales (24). Se ha establecido que, en los individuos con obesidad, la microbiota aumenta la extracción de los nutrientes, promoviendo el almacenamiento de esta energía excedente en forma de triglicéridos en los adipocitos. Esto es debido a que se suprime la expresión del inhibidor de la lipoproteín-lipasa (LPL). Esta LPL es un importante regulador en la liberación de ácidos grasos de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, por lo que al verse incrementada su actividad, se genera una mayor absorción de ácidos grasos con su consecuente acumulación en tejido adiposo (40).

Algunos autores han descrito que la microbiota intestinal de “tipo obeso” se encuentra asociada tanto al exceso de peso como a la presencia de síndrome metabólico. Esto provoca un incremento de la razón *Firmicutes/Bacteroidetes*. Adicionalmente, se sabe que las *Bifidobacteria* y *Bacteroides spp* tienden a ser protectoras contra el desarrollo de la obesidad (8). Un estudio determinó una pérdida de peso en voluntarios obesos quienes recibieron una dieta hipocalórica durante un año. El estudio dio seguimiento a través de la composición de la microbiota intestinal y se mostró que a medida que los sujetos pierden peso, la proporción de *Firmicutes* (grupos *Clostridium histolyticum*, *Clostridium litusebureense* y *Eubacterium rectale-C. coccoides*) disminuye mientras que aumenta la de *Bacteroidetes* (*Bacteroides-Prevotella* y *Lactobacillus*) favoreciendo a la pérdida de peso durante un año de intervención (22, 41). No obstante, se requiere indagar más sobre el tema, pues no se puede generalizar la información debido a la gran variedad de factores que intervienen en la variabilidad de la microbiota intestinal, principalmente por el tipo de dieta.

Otra molécula importante en el metabolismo y que se ve modificado por la microbiota es la proteína quinasa activada por AMP (AMPK). Esta molécula induce a la oxidación de ácidos

grasos para la obtención de energía al detectar una reducción de esta en las células. De esta manera la AMPK activa, propicia el uso directo de los ácidos grasos como fuente de energía en lugar de emplear energía para llevar a cabo procesos como la lipogénesis y síntesis de esteroides. La AMPK se ve regulada por los AGCC producidos por la microbiota intestinal y a su vez, la producción de estos AGCC se encuentra aumentada en sujetos obesos, siendo los *Firmicutes* los principales productores (40).

Entonces, aquellos sujetos con obesidad presentan mayor potencial de extracción energética a partir de la dieta, de esta manera producen AGCC, contradictoriamente, estos ácidos grasos inducen al apetito y a la acumulación de triglicéridos en tejido adiposo. Sin embargo, se produce al mismo tiempo pérdida de peso a través de la AMPK, por lo que se requiere de más estudios para esclarecer su intervención en el proceso obesogénico. Similarmente, los ácidos grasos de cadena corta (propionato, butirato y acetato), que son producto de la fermentación de carbohidratos complejos por parte de la microbiota intestinal, estimulan receptores de ácidos grasos libres acoplados a la proteína G. Por ejemplo, el acetato activa receptores que están implicados en la regulación del apetito y del metabolismo energético, en este último el acetato participa en el proceso de lipogénesis, mientras que el propionato lo hace en la gluconeogénesis hepática e intestinal (22). Además, tanto el propionato como el butirato aumentan la sensación de saciedad por lo cual podrían contribuir al control del apetito.

La actividad metabólica de la microbiota intestinal también puede contribuir a la generación de compuestos perjudiciales para la salud, como se da en el caso de la degradación bacteriana de las proteínas que pueden generar algunos metabolitos como amonio, aminas, índoles y fenoles (6).

1.3.2 Alteraciones metabólicas y microbiota intestinal

La microbiota intestinal eleva el uso de polisacáridos indigeribles, incrementa el ingreso de la glucosa en el intestino y la fermentación de hidratos de carbono hasta AGCC en el intestino distal. Estos ácidos grasos de cadena corta son los principales metabolitos de la microbiota intestinal, participando como intermediarios entre esta y la regulación de diversos procesos afectando directamente al estado de salud del huésped (42).

La disbiosis, también ha sido descrita en sujetos con Diabetes Mellitus tipo 2, los cuales en términos generales tendrían menor abundancia de *Bifidobacterium* spp y *Faecalibacterium prausnitzii*, conocidos por tener actividad antiinflamatoria (43). Tras la formación de AGCC por fermentación de los hidratos de carbono causada por la microbiota intestinal, se estimula la síntesis *di novo* de triglicéridos en hígado (40). Por otro lado, de los AGCC resultantes el propionato es mejor absorbido que el acetato por el colon humano y puede actuar como sustrato para la gluconeogénesis en el hígado (24). Además, este ácido actúa como inhibidor de la producción de ácidos grasos y, en menor grado, interviene reduciendo la inflamación intestinal (23). Por otro lado, el acetato representa un sustrato preferencial para la gluconeogénesis y la síntesis de colesterol y triglicéridos lo que incrementa el proceso de adipogénesis (22).

La microbiota intestinal interviene en el metabolismo de los ácidos biliares mediante su desconjugación e hidrólisis. Esta hidrólisis se lleva a cabo en la zona terminal del íleon reduciendo la solubilidad, transporte y absorción de lípidos. De esta manera es que ha sido planteada la regulación de los niveles de lipoproteínas y colesterol séricos (33). Es así que la lipogénesis aumentada se relaciona con mayor producción de lipoproteínas de muy baja densidad, las cuales transportan triglicéridos al tejido adiposo para su almacenamiento (40). Sin embargo, no ha sido evaluada la asociación de la microbiota intestinal con niveles de c-HDL y c-LDL.

1.3.3 Dieta y microbiota intestinal

La dieta forma parte de los factores que modifican la composición de la microbiota intestinal. Se ha visto que una dieta occidental, caracterizada por ser alta en proteína y grasas animales, promueve un incremento en la proporción de *Firmicutes* y *Proteobacterias*. Al contrario, una dieta predominantemente vegetariana, caracterizada por ser rica en hidratos de carbono, fibra y proteína vegetal, tiene un efecto sobre la mayor proporción de *Actinobacterias* y *Bacteroidetes*. Estas bacterias cuentan con la capacidad de digerir fibra, lo que mejora la habilidad del huésped de extraer calorías de polisacáridos indigeribles (15). Debido a ello, la composición de la dieta se ve reflejada en la variabilidad de la microbiota intestinal, puesto que aquellos componentes de la dieta que no pueden ser absorbidos por el organismo son

empleados como sustratos en la actividad metabólica de la microbiota intestinal. Es así que se podrían presentar alteraciones en la producción de determinados compuestos que repercuten en la salud del individuo (42), lo que promueve la disbiosis.

La investigación realizada por Gotteland (22), indica que el contenido de grasa de la dieta y no el fenotipo obeso del individuo, es el factor determinante en los cambios de la microbiota intestinal. Estas dietas altas en grasa también disminuyen la expresión de las estrechas uniones en las células epiteliales intestinales, lo que aumenta la permeabilidad intestinal y así del lipopolisacárido, que a su vez incrementa sus concentraciones en la circulación portal. Incluso, se ha evidenciado que la microbiota intestinal, puede influenciar en el comportamiento del huésped y en sus preferencias dietéticas, observándose así que no sólo la dieta del individuo tiene efecto en la composición de la microbiota intestinal, sino que también se da a la inversa (26).

Las modificaciones en la microbiota intestinal por la dieta, pueden presentarse de manera aguda, alterando la variabilidad de los microorganismos que la componen en las primeras 24 h tras la ingesta de alimentos. Es por ello, que se ha incrementado el interés de la modificación de la dieta en función de realizar cambios en las proporciones de la microbiota intestinal (44). También se ha determinado que ciertos alimentos parcialmente digeridos, pueden favorecer a bacterias específicas con funciones benéficas sobre el organismo, entre ellos se encuentran los prebióticos y probióticos (41).

En la figura 2, se observa como la degradación de los polisacáridos (xilano, pectina, almidón, manano e inulina) en la mucina del huésped, genera productos intermediarios (lactato, succinato, etc.), gases (dióxido de carbono, hidrógeno y metano), etanol, ácido láctico y AGCC que incluyen al acetato, butirato y propionato, los cuales representan la principal fuente de energía de los coloncitos (43).

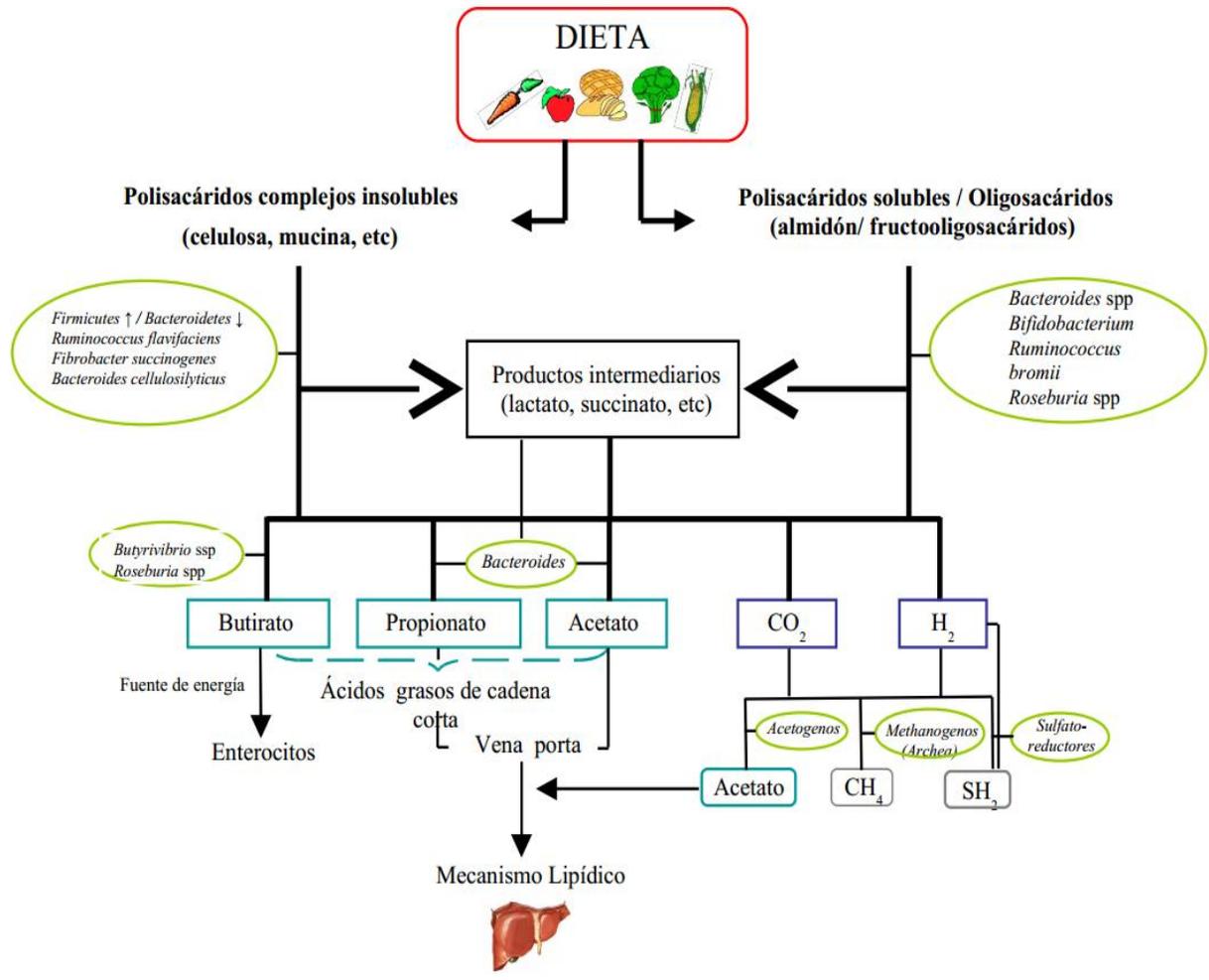


Figura 2. Esquema de las principales rutas metabólicas de poli y oligosacáridos en el ecosistema gastrointestinal. Modificado de: Santacruz-López, 2012 (43).

2. Problema de investigación

La acumulación anormal de grasa corporal condiciona el estado de salud general de la población, al incrementar el riesgo de aparición de comorbilidades tales como: resistencia a la insulina, hipertensión arterial o dislipidemias, incrementando el riesgo de muerte prematura y que jóvenes universitarios (18-24 años), cuenta con prevalencias de hasta el 28.4% de sobrepeso y 11.1% de obesidad en hombres, así como del 19% y 10.6% de sobrepeso y obesidad, respectivamente, en mujeres. Es por ello que es necesario identificar aquellos factores que puedan ser modificados mediante intervención nutricional, como la microbiota intestinal, que sean incidentes en el incremento de la grasa corporal.

Aunado a lo anterior, la investigación sobre la relación de la microbiota intestinal en el riesgo del desarrollo de sobrepeso y obesidad en población juvenil mexicana es escasa; además, en los escasos estudios realizados en población mexicana se ha empleado el IMC como indicador de grasa corporal, que más bien resulta ser funcional para establecer la relación entre el peso corporal y la talla, más no de la cantidad de grasa corporal *per se*, siendo condiciones que pudieran interferir en los resultados que han sido obtenidos.

Así mismo, si bien la evidencia actual plantea que la Microbiota Intestinal de “tipo obeso”, se caracteriza por la presencia de mayor proporción de bacterias pertenecientes al filo de los *Firmicutes* y menor de las bacterias pertenecientes al filo *Bacteroidetes*, los resultados han sido poco concluyentes puesto que estos varían significativamente de una población a otra.

A razón de lo antes mencionado, resulta de interés evaluar la posible presencia de la “Microbiota intestinal de tipo obeso” en universitarios, comparando la relación *Firmicutes* / *Bacteroidetes* en jóvenes caracterizados por su porcentaje de grasa corporal en tres grupos de estudio: normopeso, sobrepeso y obesidad, para con ello identificar el filo bacteriano en la Microbiota Intestinal, que pudiera ser agente causal del incremento del porcentaje de grasa corporal. Planteando como pregunta de investigación: ¿La relación *Firmicutes/Bacteroidetes* de la microbiota intestinal está asociada con alteraciones en el porcentaje de grasa e indicadores metabólicos como glucosa, triglicéridos, colesterol total c-HDL en jóvenes universitarios con normopeso, sobrepeso u obesidad?

3. Hipótesis

H0: El aumento en la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* de la microbiota intestinal está asociado con un mayor porcentaje de grasa corporal, niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol total y c-HDL en jóvenes universitarios.

H1: El aumento en la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* de la microbiota intestinal carece de asociación con un mayor porcentaje de grasa corporal, niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol total y c-HDL en jóvenes universitarios.

4. Justificación

La investigación en nutrición ha buscado identificar factores que puedan modificarse a partir de intervención nutricional para la disminución de la grasa corporal excedente; por lo que en la última década, la microbiota intestinal ha cobrado relevancia como un nuevo factor a considerar en la alteración de la composición corporal, al promover el incremento de tejido adiposo, debido a su capacidad para extraer energía a partir de polisacáridos no digeribles, resultando en una fuente extra de energía para el huésped. Así mismo, la microbiota intestinal tiene la capacidad de regular genes del hospedero relacionados con el consumo y almacenamiento energético, procesos que resultan no solo en el incremento de peso corporal, sino que también en la modificación de la composición corporal si no también en desarrollo de resistencia a la insulina y dislipidemia.

En seguimiento a las modificaciones metabólicas ocasionadas por la disbiosis, las bacterias intestinales influyen también en indicadores metabólicos debido a su intervención en el incremento del consumo y almacenamiento energético. Además, participan en la modulación de las concentraciones sanguíneas de lipopolisacárido (LPS) el cual es un mediador sistémico de la inflamación crónica. esta última predispone al desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina, lo cual deriva en una relación positiva entre la presencia de ciertos filos bacterianos y alteraciones en indicadores metabólicos como la glucosa y el perfil lipídico (triglicéridos, colesterol total, c-HDL y c-LDL).

La identificación del filo de bacterias predominante en sujetos con normopeso, sobrepeso y obesidad, abriría paso a investigaciones, en las que se podría incrementar el número de población evaluada o incluso, a ensayos clínicos enfocados en la modificación de la microbiota intestinal. Todo ello con el fin de disminuir la acumulación excesiva de grasa corporal, promoviendo así el diseño de intervenciones nutricionales con impacto sobre la composición corporal más que en el peso. Estos estudios impactarían de mejor manera en la prevención de enfermedades no transmisibles o incluso en la prevención de comorbilidades, en aquellos casos donde las enfermedades ya han sido desarrolladas, generando una mejora en la calidad de vida de las personas que padezcan sobrepeso u obesidad.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

Establecer la asociación de la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* de la microbiota intestinal con el porcentaje de grasa e indicadores metabólicos como glucosa, triglicéridos, colesterol total y c-HDL en jóvenes universitarios entre 18 y 25 años del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo divididos por porcentaje de grasa en normopeso, sobrepeso y obesidad, mediante un estudio transversal comparativo.

5.2 Objetivos Específicos

Evaluar la composición corporal de los sujetos de estudio por impedancia bioeléctrica para realizar la caracterización de los grupos de estudio en normopeso, sobrepeso y obesidad de acuerdo con su porcentaje de grasa.

Establecer cifras de glucosa, triglicéridos, colesterol total y c-HDL en la población de estudio a partir de muestras sanguíneas, para detectar posibles alteraciones en dichos indicadores metabólicos.

Determinar los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* de la microbiota intestinal de los universitarios mediante la purificación y extracción de DNA en muestras de heces para establecer la relación *Firmicutes/Bacteroidetes*.

Determinar la correlación de Pearson de la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* con el porcentaje de grasa e indicadores metabólicos para establecer asociaciones entre las variables.

6. Diseño Metodológico

6.1. Tipo de estudio

Se empleó un estudio observacional, transversal y comparativo debido a que se realizó una correlación entre el porcentaje de grasa corporal, glucosa, triglicéridos, colesterol total y c-HDL con la relación *Firmicutes/Bacteroidetes*, en los grupos de estudio (normopeso, sobrepeso y obesidad) para establecer asociaciones entre dichas las variables.

6.2. Población y muestra

Para el presente estudio fueron evaluados hombres y mujeres entre 18 y 25 años de edad, quienes fueron reclutados del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Debido a la escasez de datos sobre prevalencias y/o proporciones que indique cifras de referencia, se partió de un estudio realizado en 2015, por Hu y colaboradores en adolescente coreanos, donde fueron evaluados 134 adolescentes entre 13 y 16 años, 67 normopeso y 67 con obesidad y en el que se realizaron mediciones similares a las que para el presente fueron realizadas.

6.2.1 Cálculo de muestra

El cálculo de tamaño de los grupos a evaluar, se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N * Z\alpha^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z\alpha^2 * p * q}$$

Donde:

- N = Total de la población (134)
- $Z\alpha^2 = 1.962$ (seguridad del 95%)
- p = proporción esperada (45% = 0.45)
- q = 1 – p (0.55)
- d = precisión (3%)

$$n = \frac{134 * 1.96^2 * 0.45 * 0.55}{0.03^2 * (134 - 1) + 1.96^2 * 0.45 * 0.55}$$

$$n = \frac{359.05}{2.76}$$

$$n = 130$$

COMPARACIÓN DE DOS PROPORCIONES (Comparación de diferencia entre poblaciones)	
Tipo de test	UNILATERAL
Nivel de confianza o seguridad	95%
Poder estadístico	80%
P1 (Proporción en el grupo de referencia)	45%
P2 (proporción en el grupo del nuevo tratamiento, intervención o técnica)	25%
TAMAÑO MUESTRAL (n)	69
TAMAÑO MUESTRAL AJUSTADO POR PÉRDIDAS	
Proporción esperada de pérdidas (R)	10%
MUESTRA AJUSTADA A LAS PÉRDIDAS	77

Si bien a partir de este tamaño de muestra calculada se realizó un muestreo estratificado de hombres y mujeres del Instituto de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, y aleatoriamente evaluaron 130 individuos, tomando en consideración los criterios de inclusión, exclusión y eliminación que a continuación se enlistan y por cuestiones técnicas ajenas al estudio, fueron analizados 70 sujetos.

6.2.2 Criterios de inclusión

- Hombres y mujeres de entre 18 y 25 años de edad
- Que presenten diagnóstico por porcentaje de grasa de: normopeso, sobrepeso u obesidad
- Sin tratamiento con antibióticos, actual o de 2 semanas previas a la evaluación

- Que estuvieran de acuerdo con lo establecido en el consentimiento informado (Anexo 1) y hagan firma de este.

6.2.3 Criterios de exclusión

- Fuera del rango de edad considerado para jóvenes universitarios
- Que se encontraran bajo tratamiento con antibióticos actualmente o hasta 2 semanas previas a la toma de muestra de heces fecales
- Mujeres que estuvieran cursando en periodo menstrual, en periodo de gestación o lactancia
- Con diagnóstico de alguna patología base que condicione a obesidad, dislipidemias, resistencia a la insulina, diabetes tipo 1 ó 2, enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad Celíaca, enfermedad de Crohn, diverticulosis).
- Que no estuvieran de acuerdo y/o no firme el consentimiento informado
- Con ayuno menor a 8 hrs.

6.2.4 Criterios de eliminación

- Sujetos con porcentaje de grasa por debajo de los parámetros de normalidad
- Inasistencia a la cita de evaluación
- No proporcionaron muestra de materia fecal

6.2.5 Diagrama del estudio

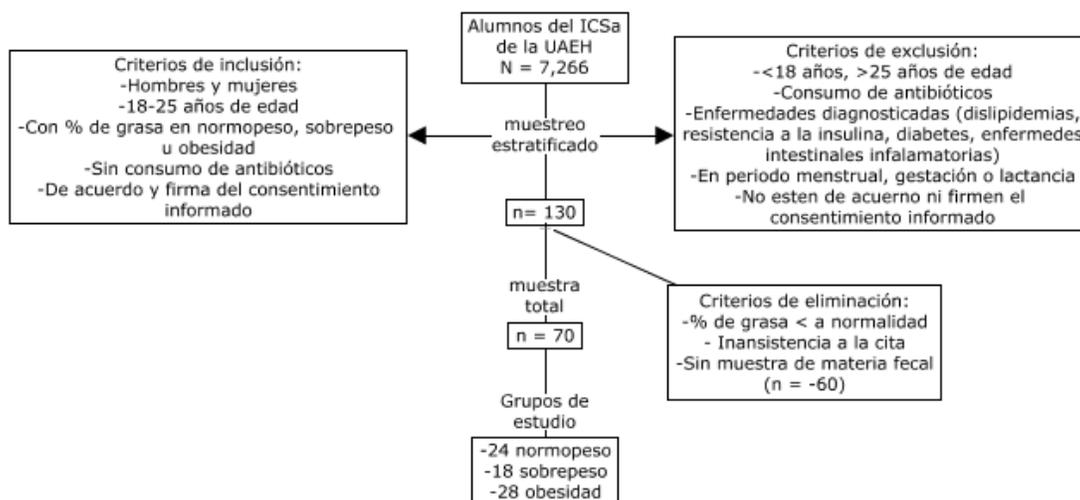


Figura 3. Diagrama de la población de estudio y etapas de selección de muestra

6.3. Variables

Tabla 4. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable
Edad	Tiempo que ha vivido una persona, en años.	18 - 25 años	Confusora / cuantitativa
Género	Condición orgánica, masculina o femenina, de los seres vivos.	Masculino Femenino	Confusora / cualitativa
Peso	Representa la masa corporal total, es decir, la suma de todos los compartimientos corporales (32)	Peso en kg	Confusora / cuantitativa Agregar IMC
Porcentaje de grasa	Indicador de la acumulación promedio de nutrimentos y otras	Porcentaje de grasa corporal en hombres: - Normopeso: 8-20%	Dependiente / cuantitativa

	sustancias provenientes de los alimentos consumidos, tomando como referencia el modelo bicompartimental, que considera porcentaje de grasa corporal y masa libre de grasa (33).	- Sobrepeso: 20-25% -Obesidad >25% (45) Porcentaje de grasa corporal en mujeres: - Normopeso: 21-33% - Sobrepeso: 33-39% -Obesidad >39% (45)	
Glucosa	Permiten determinar cambios en la reserva de algún nutriente, antes que se presenten signos o síntomas clínicos; utilizados para confirmar un diagnóstico nutricional (32).	70-100 mg/ dL (32)	Dependiente / cuantitativa
Triglicéridos		<150 mg/ dL (32)	Dependiente / cuantitativa
Colesterol Total		<200 mg/ dL (32)	Dependiente / cuantitativa
c-HDL		Hombres: ≥ 40 mg/ dL (32) Mujeres: ≥ 50 mg/ dL	Dependiente / cuantitativa
Microbiota intestinal	Ecosistema bacteriano complejo que habita en el tubo digestivo (46)	Ratio F/B: 0.4 - 0.6 (47)	Independiente / cuantitativa y cualitativa

6.4 Procedimiento e instrumentos de recolección de información

Información General. El género y edad se obtuvieron por interrogatorio directo, para determinar el cumplimiento de los criterios de inclusión y la información fue capturada en una base de datos en Excel.

Peso. La determinación del peso se realizó mediante el InBody® 270, solicitando al sujeto de estudio que colocara las plantas de los pies descubiertos alineados sobre los electrodos presentes en la base del equipo y se mantuviera inmóvil hasta que el equipo hasta que éste arrojara el resultado en pantalla para ser capturado de inmediato en la base de datos.

Composición corporal. Una vez que el InBody® 270 daba a conocer el peso del sujeto en cuestión, se introdujeron el sexo, talla y edad de la persona, y se le indicaba al participante

que tomara los electrodos para las manos, colocando el dedo pulgar en el electrodo superior y el resto de los dedos en el electrodo inferior, también se mencionaba que permaneciera con los brazos completamente extendidos, evitando que estos rozaran su torso y con los muslos sin tocarse, hasta que el dispositivo mostrara los resultados en la pantalla, datos que fueron capturados en una base de datos en Excel.

Indicadores metabólicos. Los participantes acudieron a la cita de evaluación con 8 horas de ayuno para la determinación de glucosa, triglicéridos, colesterol total y c-HDL, a partir de una muestra de sangre. Esta muestra fue extraída con ayuda de un médico quien, tras colocar en el brazo la ligadura y ubicar la vena cubital, introdujo la aguja en dicha vena para colocar en su otro extremo un tubo Vacutainer de tapa roja. Una vez obtenida la sangre suficiente (5ml), se retiró el tubo y la aguja. Se rotuló el tubo con el folio del sujeto evaluado. Posteriormente los tubos con muestras sanguíneas fueron centrifugados por 10 minutos a 3400 rpm en una centrífuga marca Cole Parmer para finalmente transportarlos en frío al laboratorio ELI S.A. de C.V. ubicado en Mineral de la Reforma, para su análisis.

Microbiota intestinal. Los sujetos de estudio proporcionaron una muestra de materia fecal, de la primera evacuación del día de su cita de evaluación. Esta fue recolectada en un recipiente estéril con tapa de rosca, mismo que les fue previamente proporcionado. Una vez recibidas las muestras, se etiquetaron con el folio del sujeto de estudio y fueron almacenadas a -18°C hasta su procesamiento. El protocolo utilizado fue el siguiente:

-Extracción y purificación de DNA. Las muestras de materia fecal fueron procesadas siguiendo el protocolo del Genomic DNA Extraction Kit de Bio Basic® (Anexo 2) y almacenadas en viales a -18°C.

-Determinación de integridad y pureza de DNA. Una vez procesadas todas las muestras de heces hasta la obtención del DNA, este fue analizado por espectrofotometría en un Nanodrop, con el fin de determinar la integridad y pureza del DNA extraído, previo a su amplificación por PCR, para ello, se consideró un C-DNA ≥ 10 ug/ml como señalizador de integridad y un C-Pro entre 1.0 - 2.0 ug/ml como indicador de pureza de la muestra.

-*Amplificación del DNA*. Una vez que se corroboró la integridad y pureza del DNA extraído, este fue amplificado empleando un termociclador marca Eppendorf, modelo Mastercycler pro, utilizando la rampa presentada en la figura 4.



Figura 4. Condiciones de amplificación para muestras de DNA extraído

Para la amplificación se usó una Taq-Polimerasa Taq-& LOAD 5xC marca MP, agua libre de nucleasas, y en la mezcla de reacción se adicionaron los primers para *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Universal bacterial 16s rRNA* en las cantidades que se muestran en la tabla 5. Los primers fueron diseñados de acuerdo a (14):

Bacteroidetes: 798CFBf AACTCAAAGGAATTGACGG (Forward) y cfb967R GGTAAGGTTCCCTCGCGCTAT (Reverse).

Firmicutes: 928F-firm TGAAACTYAAGGAATTGACG (Forward) y 1040fIRMr ACCATGCACCACCCTGTC (Reverse)

Tabla 5. Reactivos empleados para la amplificación del DNA por PCR

REACTIVO	CANTIDAD
Máster mix	12.5 µl
Agua libre de nucleasas	5.5 ul
Primer Forward	1 µl
Primer Reverse	1 µl
DNA	1 µl

-Determinación de la relación Firmicutes / Bacteroidetes (F/B). Finalmente, el amplificado del DNA fue sometido a electroforesis a 35 V por 10 minutos en un gel de agarosa al 1%, para ser revelado en el Gel Doc™ EZ Imager, Marca Bio Rad, empleado el software Image Lab versión 3.0 para determinar la relación de cada filo bacteriano de acuerdo al cálculo de concentraciones arrojadas por el software.

6.5 Plan de análisis estadístico

Se realizaron pruebas de análisis univariado como frecuencias, valor mínimo, valor máximo, media y desviación estándar (DE) para la estadística descriptiva, utilizando el paquete estadístico SPSS V25. Respecto a la estadística inferencial, se realizó un modelo de regresión lineal con coeficiente de determinación y correlación de Pearson para los datos que cumplieron con la prueba de normalidad, correlación de Spearman para los que no cumplieron con la prueba de normalidad para determinar la asociación entre las variables en los diferentes grupos de estudio, empleando Kolmogorov Smirnov para determinar la normalidad de los datos mediante el paquete estadístico jamovi versión 2.3.21.0 y un análisis por componentes, para graficar la dispersión de los datos empleando Origin Pro 2017.

6.6 Aspectos éticos de la investigación

El presente estudio implicó riesgo mínimo, de acuerdo con lo estipulado en el título quinto de la Ley General de Salud, Investigación para la Salud, al comprender el desarrollo del conocimiento sobre problemas de salud. En este caso, relacionados con la promoción de una composición corporal adecuada, que mejore el estado nutricional del paciente y por consiguiente, su estado de salud. Además, las mediciones y muestras fueron realizadas por profesionales de la salud en instalaciones adecuadas y equipadas para realizar dichos procedimientos sin que esto implica riesgo alguno sobre la salud o la vida de los sujetos de estudio. Cabe destacar que no se realizó ninguna medición o toma de muestra a la persona, sin que previamente hubiese leído y firmado el consentimiento informado (Anexo 1), donde además de hacerle de su conocimiento dichos procedimientos, le fue aclarado que los datos fueron utilizados de manera confidencial, únicamente con fines del presente estudio.

Por lo anterior, el presente documento fue aprobado por parte del Comité de Ética del Instituto de Ciencias de la Salud, de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, con número de aprobación 202-14 (Anexo 3) para corroborar la viabilidad del mismo.

7. Resultados

7.1 Características generales de la población de estudio

De los 107 alumnos evaluados, 95 cumplieron con todos los criterios de inclusión, no obstante, finalmente fueron analizados solamente los datos de 70 sujetos de estudio debido a situaciones técnicas ajenas al estudio. Sin embargo, este número de individuos fue suficiente para tener los datos que soportan las conclusiones del proyecto.

Los datos presentados en la tabla 6, muestran el análisis descriptivo de la población de estudio, la edad con mayor frecuencia fue de 23 años, con un 22.9%, mientras que la de menor frecuencia fue de 18 años con un 1.4%. Con respecto al género, de los 70 universitarios evaluados, el 55.7% fueron pertenecientes al género femenino y el 44.3% restante masculino. Finalmente, al clasificar a los participantes de acuerdo con su IMC el grupo normopeso contó con 43 sujetos (61.4%), el de sobrepeso con 18 (25.7%) y el de obesidad con 9 (12.9%). Por otro lado, al realizar la misma caracterización, pero por porcentaje de grasa, el grupo normopeso estuvo conformado por 24 (34.3%) sujetos, el grupo de sobrepeso con 18 (25.7%) sujetos y el grupo obesidad con los 28 (40%) restantes. Los datos se encuentran desglosados en la tabla 6.

Tabla 6. Frecuencia de edad, género y grupos de estudio

Variable	Frecuencia	Porcentaje (%)	
Edad	18	1	1.4
	19	2	2.9
	20	4	5.7
	21	12	17.1
	22	15	21.4
	23	16	22.9
	24	11	15.7
	25	9	12.9
Género	Femenino	39	55.7
	Masculino	31	44.3
Grupos de estudio por IMC	Normopeso	43	61.4
	Sobrepeso	18	25.7
	Obesidad	9	12.9
Grupos de estudio por porcentaje de grasa	Normopeso	24	34.3
	Sobrepeso	18	25.7
	Obesidad	28	40.0

7.2 Determinación de IMC y grasa corporal

En las figuras 5 y 6 se muestra la distribución de los grupos por IMC y porcentaje de grasa corporal. Los análisis demostraron que el IMC superior se encontró en los individuos con normopeso (61.4 %). En contraste a aquellos con obesidad, los cuales tuvieron el valor más bajo (12.9 %). De esta manera se observó que la relación de IMC estaría asociada con la cantidad de grasa corporal.

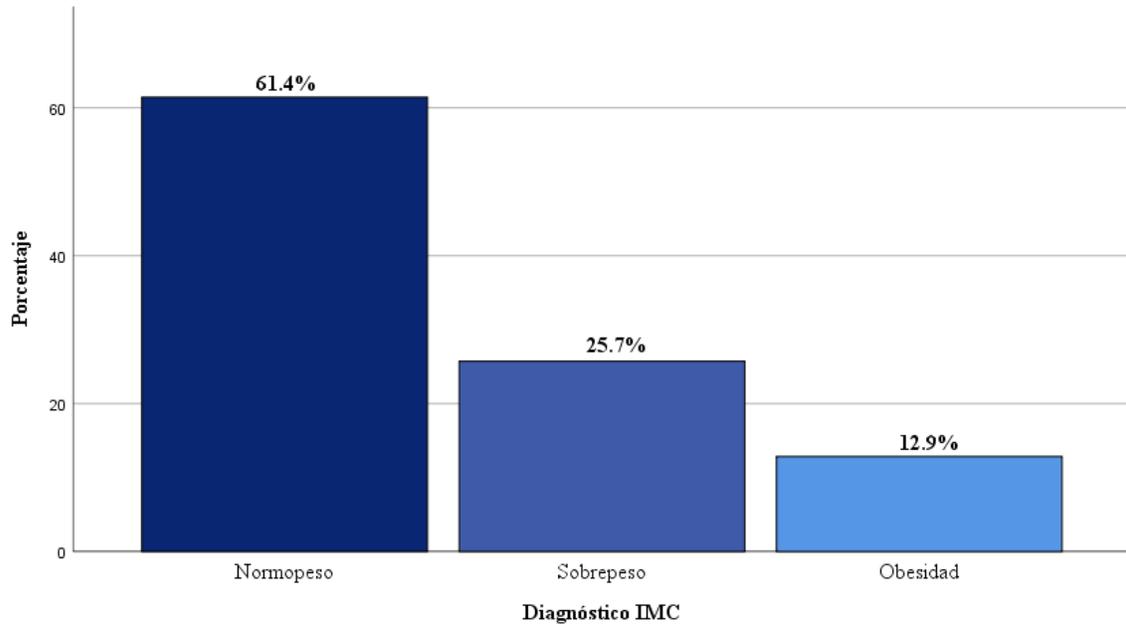


Figura 5. Frecuencia de grupos por IMC

Es así que se observó que, al realizar la caracterización de los grupos por porcentaje de grasa corporal, aquellos con obesidad tuvieron el mayor porcentaje (40 %). Mientras tanto aquellos individuos con normopeso tuvieron un porcentaje de grasa corporal significativamente superior (34.4 %) a aquellos con sobrepeso (25.7 %). De esta manera se observó que solo el grupo con obesidad comparte la relación de menor IMC con el mayor porcentaje de grasa corporal.

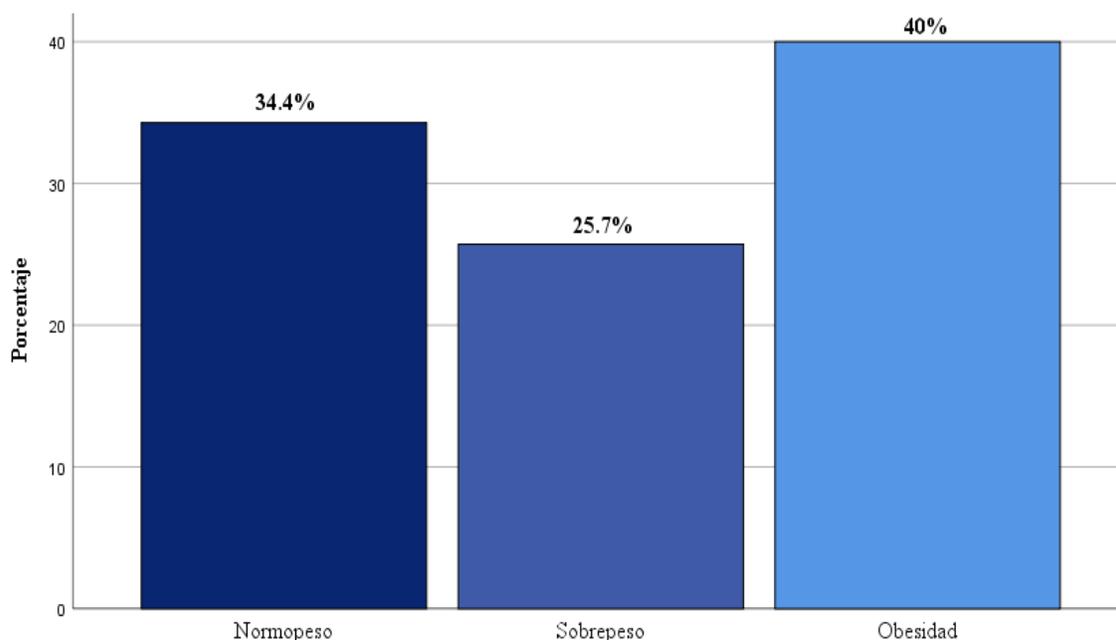


Figura 6. Frecuencia de grupos por Porcentaje de Grasa Corporal

7.3 Análisis de parámetros metabólicos

En cuanto a los resultados de indicadores metabólicos y como se observa en la tabla 7, la media para la glucosa fue de 83.91 (± 7.78), 116.35 (± 83.77) para triglicéridos y 172.71 (± 29.73) para colesterol total. En cuanto a c-HDL la media encontrada fue de 57.74 (± 11.56) y 51.38 (± 7.88) para mujeres y hombres respectivamente.

Tabla 7. Análisis descriptivo para indicadores metabólicos

Variable	Glucosa	Triglicéridos	Colesterol Total	c-HDL Mujeres	c-HDL Hombres
Mediana	83.91 \pm 5.78	116.35 \pm 83.77	172.71 \pm 29.73	57.74 \pm 11.56	51.38 \pm 7.88
Rango	70 - 95	31-518	105 - 247	35 - 79	38 - 70

Como se puede observar los valores encontrados para glucosa, colesterol total y c-HDL están dentro de los parámetros normales para una persona sana, mientras que, para triglicéridos, se encontraron cifras por arriba de los 150 mg/ dL.

7.4 Extracción de DNA de heces

La extracción de DNA se realizó de las eluciones resultantes del proceso de extracción y purificación de las heces. Las muestras fueron analizadas mediante electroforesis empleando agarosa al 1% y todas dieron positiva a la presencia de material genético (Figura 7).

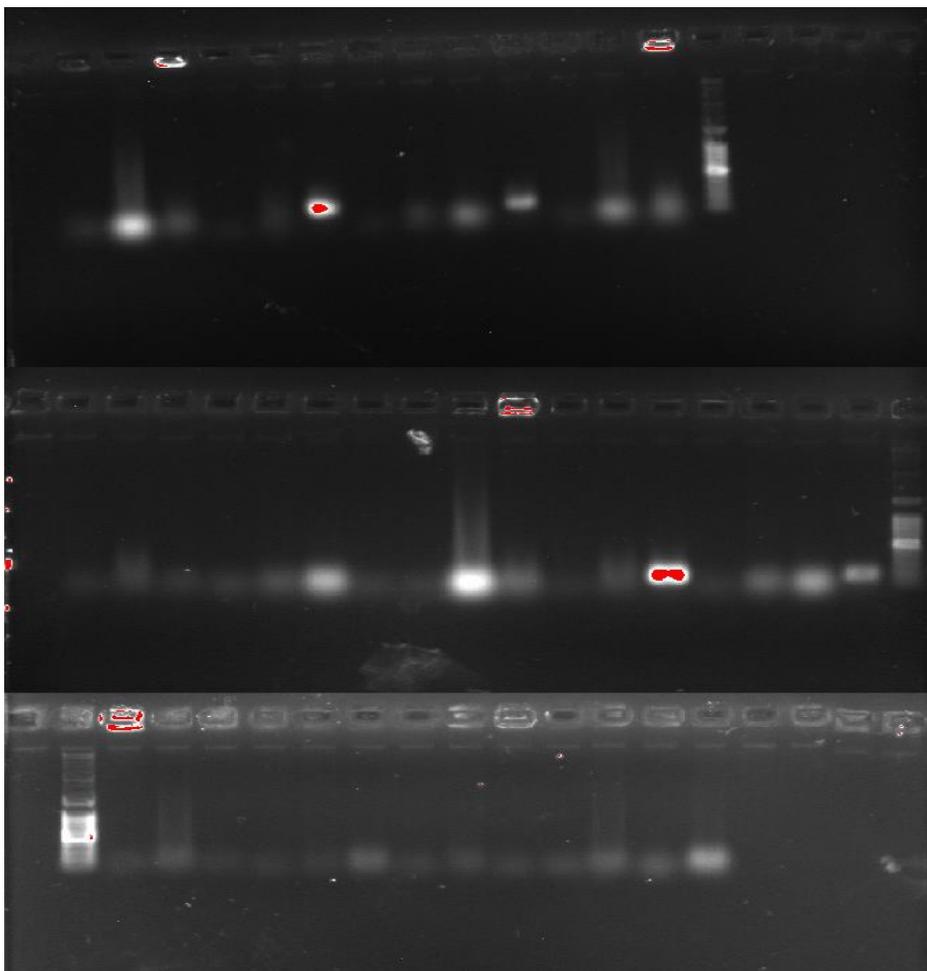


Figura 7. Prueba de electroforesis de las eluciones obtenidas a partir de la extracción y purificación de DNA de heces de jóvenes universitarios. De arriba hacia abajo y de izquierda a derecha: muestras de los individuos 1 hasta el 42.

Una vez confirmada la presencia de DNA en las eluciones obtenidas, se realizó la cuantificación y determinación de la pureza e integridad de las mismas mediante espectrofotometría. De esta manera se precisó la viabilidad para la posterior amplificación por PCR. Los resultados arrojados por el Nanodrop tanto para concentración como para la integridad y pureza (medida como ratio) se presentan en la tabla 8. En todos los casos la pureza estuvo por encima de 1.0 lo que es un valor suficientemente alto para confiar en la presencia del material genético para su amplificación.

Tabla 8. Pureza e integridad de los extractos de DNA

No. de muestra	C-DNA (ug/dl)	Ratio	No. de muestra	C-DNA (ug/dl)	Ratio
001	60.3	1.88	039	147.5	1.63
003	11.19	1.46	040	328.8	1.70
004	79.29	1.87	041	123.7	1.80
005	39.82	1.65	042	143.7	1.82
006	15.18	1.61	043	48.8	1.79
008	77.90	1.85	044	67.7	2.10
009	27.0	1.35	045	24.2	1.85
010	13.3	1.97	046	5.12	1.03
011	9.7	1.57	047	9.71	1.31
012	64.9	2.20	048	117.4	2.09
013	135	1.81	049	73.14	2.10
014	62.84	1.93	050	72.3	2.14
015	173.1	2.06	051	544.6	2.10
016	185.8	1.89	052	17.8	2.35
017	204.9	1.89	053	165.0	2.04
018	37.90	1.69	054	11.2	2.01
019	436.6	1.59	055	12.0	2.42
020	316.8	1.63	056	12.0	2.42
021	41.6	1.48	057	3.78	13.1
022	119.7	2.01	059	22.5	2.31

023	22.64	1.30	061	92.0	1.36
024	103.3	1.62	062	43.5	1.99
026	29.05	2.03	063	7.8	1.16
027	41.08	1.71	064	110.8	1.70
028	62.31	1.94	065	115.9	1.47
029	297.8	2.00	066	85.1	1.46
030	28.28	1.85	067	17.2	2.22
031	205.8	1.65	068	53.3	1.67
031	205.8	1.65	069	120.7	1.96
032	447	2.09	070	47.1	2.13
033	114.9	1.88	071	182.4	1.73
034	11.59	1.43	072	429.0	1.99
035	44.84	1.66	073	37.7	2.16
036	162.2	2.09	082	161.5	1.61
037	9.88	1.86	083	103.2	1.86
038	306.6	1.85	084	10.7	1.79

7.5 Volumen de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* por grupo de estudio

De acuerdo con los datos obtenidos por el análisis de imagen arrojado por el software GelDoc sobre el volumen de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* (anexos 4 y 5), se determinaron las medias y desviaciones estándar reportadas en la tabla 9 para cada uno de los grupos de estudio.

Partiendo de este análisis se puede observar que, si bien las desviaciones estándar son amplias, la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* está ligada directamente a la concentración de ambos filos, ya que se encontró un incremento en la media del volumen de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* con el aumento tanto del peso como del porcentaje de masa grasa.

Tabla 9. Medias y desviación estándar del volumen de banda del amplificado de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* por grupos de estudio

Grupo	IMC			% MG		
	Normopeso	Sobrepeso	Obesidad	Normopeso	Sobrepeso	Obesidad
<i>Firmicutes</i>	152.24 ± 169.31	160.18 ± 119.28	204.91 ± 178.30	82.15 ± 75.36	191.54 ± 217.08	170.70 ± 138.52
<i>Bacteroidetes</i>	177.50 ± 204. 53	132.67 ± 103.61	173.43 ± 173.39	175.57 ± 246.98	166.63 ± 113.35	191.72 ± 249.07
<i>Ratio F/B</i>	0.85	1.20	1.18	0.46	1.14	0.89

Para complementar las medias y desviaciones estándar, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para realizar la comparación de las medias, debido a que los datos no cumplieron con la normalidad, efectuando los análisis de manera independiente tanto para la clasificación por IMC como para % de masa grasa se pudo observar que no existen diferencias significativas en las medias para ninguna de las relaciones ensayadas, tanto por filo como entre grupos de estudio, como se muestra en la tabla 10.

Tabla 10. Comparación de medias del volumen de Firmicutes y Bacteroidetes de los grupos de estudio clasificados por IMC y % de masa grasa

Grupo	IMC	%MG
<i>Firmicutes</i>	0.406	0.124
<i>Bacteroidetes</i>	0.672	0.538

7.6 Relación F/B por grupo de estudio

Las medias y rangos de la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* en los grupos de estudio, clasificados tanto por IMC como por porcentaje de grasa corporal se presentan en la tabla 11. Se observó un incremento en la media de la relación *F/B* al aumento tanto de peso como de masa grasa.

Tabla 11. Medias y rangos de la relación Firmicutes/Bacteroidetes por IMC y porcentaje de masa grasa

Clasificación	IMC			% MG		
	Normopeso	Sobrepeso	Obesidad	Normopeso	Sobrepeso	Obesidad
Medias	1.05 ± 0.90	1.17 ± 0.94	1.33 ± 0.68	0.68 ± 0.32	1.27 ± 0.95	1.39 ± 1.03
Rangos	0.35 - 4.80	0.70 - 4.45	0.69 - 2.78	0.70-1.76	0.56 - 4.69	0.45 - 4.80

7.7 Asociación de la relación F/B con parámetros bioquímicos y porcentaje de grasa en grupos clasificados por porcentaje de grasa

En el caso de las asociaciones de los grupos de estudio caracterizados por porcentaje de grasa con la relación *F/B* son presentadas en la tabla 12. Tras realizar la correlación de Pearson y Spearman la fuerza de asociación entre la relación *F/B* con indicadores metabólicos y porcentaje de grasa fue baja con un modelo estadístico no significativo, al presentar valores de $p > 0.05$ en todos los casos.

Tabla 12. Coeficientes de correlación y determinación entre la relación F/B, indicadores metabólicos y porcentaje de masa grasa en grupos normopeso, sobrepeso y obesidad, clasificados por porcentaje de masa grasa.

Variable	Normopeso		Sobrepeso		Obesidad	
	R	R ²	R	R ²	R	R ²
Glucosa	0.033	0.001	0.070	0.004	0.063	0.003
Triglicéridos	0.200*	0.039	0.087	0.006	0.122*	0.001
Colesterol total	0.223	0.049	0.178	0.031	0.132	0.017
c-HDL	0.105	0.011	0.263	0.069	0.065	0.004
%MG	0.149*	0.004	0.080*	0.051	0.259	0.066

En todos los casos, el modelo de regresión lineal no fue estadísticamente significativo ($p > 0.05$).

*Coeficiente de correlación de Spearman

7.8 Asociación de la relación F/B con parámetros bioquímicos y porcentaje de grasa en grupos clasificados por IMC

Para las asociaciones entre los grupos de estudio clasificados por IMC, el modelo estadístico no fue significativo ya que se obtuvieron valores $p > 0.05$ en todos los casos. En cuanto a la fuerza de asociación, se observó una asociación débil entre el porcentaje de grasa y la relación F/B en los grupos sobrepeso y obesidad, con un coeficiente de relación 0.38 para sobrepeso y 0.33 para obesidad, no obstante, para el resto de las variables, la fuerza de asociación osciló entre valores de 0.000 y 0.251, como se detalla en la tabla 13.

Tabla 13. Coeficientes de correlación y determinación entre la relación F/B, indicadores metabólicos IMC en grupos normopeso, sobrepeso y obesidad clasificados por IMC.

Variable	Normopeso		Sobrepeso		Obesidad	
	R	R ²	R	R ²	R	R ²
Glucosa	0.140	0.019	0.038	0.001	0.311	0.096
Triglicéridos	0.201*	0.003	0.000*	0.002	0.214*	0.045
Colesterol total	0.251	0.063	0.017	0.003	0.071	0.005
c-HDL	0.189	0.035	0.056	0.003	0.088	0.007
%MG	0.045	0.002	0.385	0.001	0.330	0.109

En todos los casos, el modelo de regresión lineal no fue estadísticamente significativo ($p > 0.05$).

*Coeficiente de correlación de Spearman

Si bien las asociaciones entre la relación *F/B*, indicadores metabólicos y porcentaje de grasa encontradas (tanto en los grupos clasificados por porcentaje de grasa como por IMC) fueron bajas, los coeficientes de correlación estuvieron ligeramente incrementados para glucosa y % MG en sobrepeso y obesidad en los grupos clasificados por IMC. Sin embargo, en los grupos clasificados por porcentaje de grasa se obtuvieron coeficientes de correlación mayores para triglicéridos, colesterol total y c-HDL.

Finalmente, en los gráficos presentados en las figuras 8, 9 y 10, se observa la distribución de los valores de la relación *F/B*, glucosa, triglicéridos, colesterol total y c-HDL, para normopeso, sobrepeso y obesidad respectivamente. En estas gráficas se observó que si bien las fuerzas de asociación fueron bajas, hay algunas variables que guardan cierta relación, ya que su distribución se da hacia un mismo cuadrante.

De acuerdo con los resultados presentados en la figura 8, se pudo observar que en el grupo Normopeso existe, como es de esperar, una relación entre la concentración de glucosa, colesterol y c-HDL. Además, hay una relación cercana, pero débil, entre la relación F/B y triglicéridos toda vez que la dispersión se encuentra en el mismo cuadrante de la gráfica.

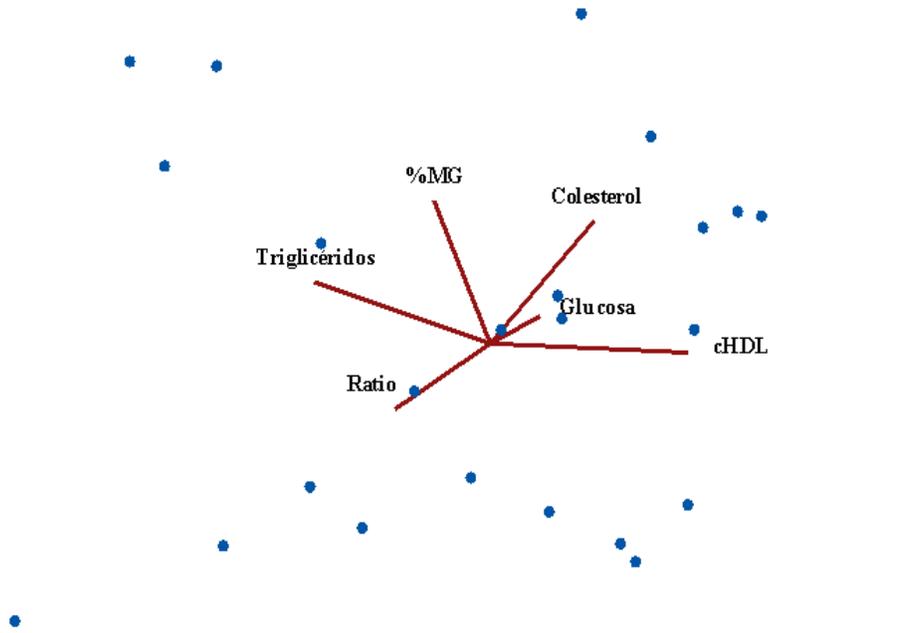


Figura 8. Análisis por componentes del grupo Normopeso

En el caso del grupo Sobrepeso, la figura 9 muestra una relación cercana, pero con baja fuerza de asociación ($R = 0.263$) entre %MG y c-HDL. Adicionalmente el contenido de triglicéridos y colesterol es cercano y estas dos se encuentran relacionadas con la relación F/B , aunque la relación es cercana es débil ($R = 0.087$ y 0.178 respectivamente).

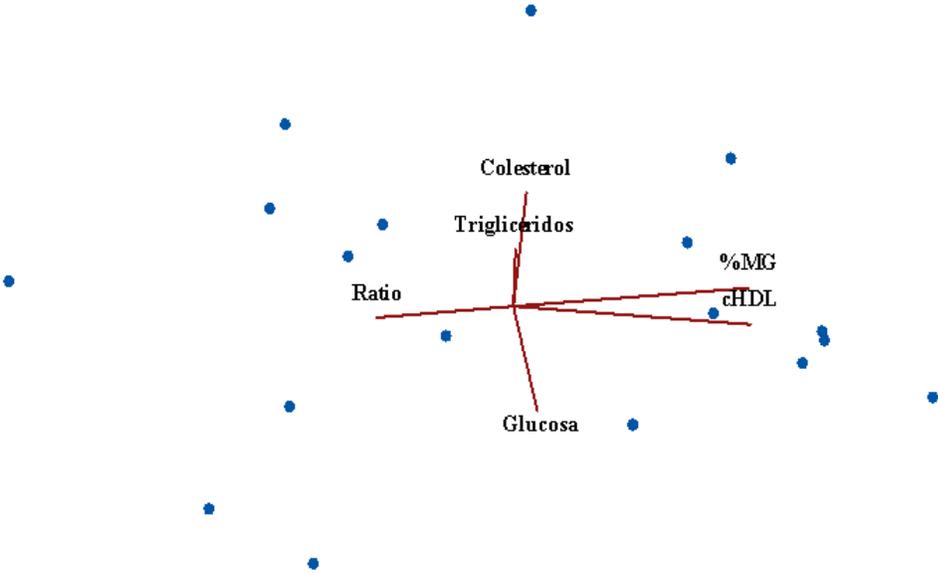


Figura 9. Análisis por componentes del grupo Sobrepeso

Finalmente, en el grupo Obesidad es en el cual se encuentra una relación más cercana entre la relación F/B y el contenido de colesterol, aunque también con una fuerza de asociación débil ($R = 0.132$). Este último factor se relaciona con el contenido de triglicéridos al encontrarse sobre el mismo cuadrante. Otra relación interesante es la que guarda él %MG y c-HDL, debido a que pueden observarse de igual manera, sobre el mismo cuadrante de relación, como puede observarse en la figura 10.

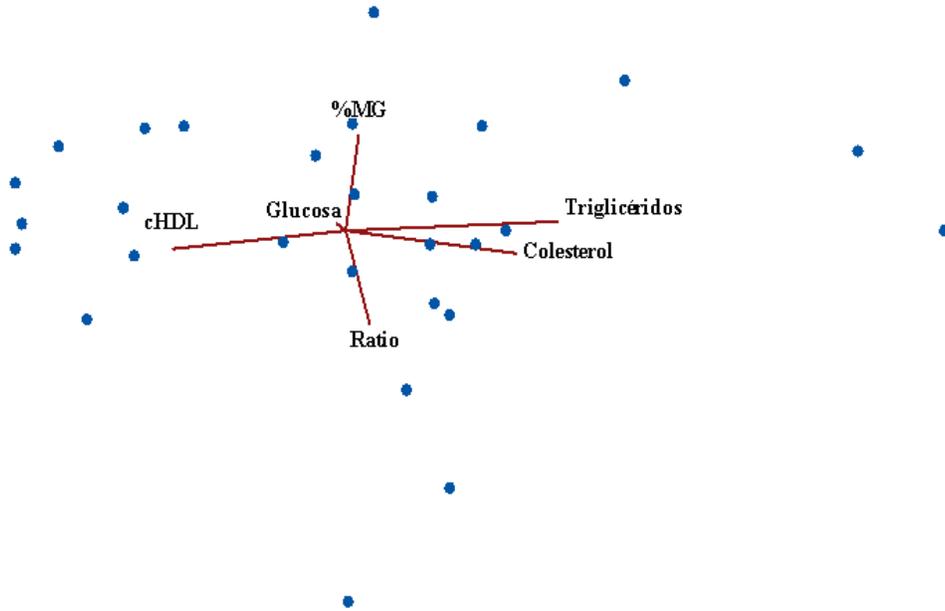


Figura 10. Análisis por componentes del grupo Obesidad

8. Discusión

8.1 Evaluación antropométrica

Los resultados obtenidos tras la caracterización de la población por IMC, donde el 61.4% se encontraron con sobrepeso, 25.7 con sobrepeso y 12.9% contrastan con los reportados por el estudio de Cruz-Rodriguez et al, quienes encontraron al 40% de su población total con normopeso, 22% sobrepeso y el 38% restante con obesidad (48); no obstante son similares a los referidos por Ramos et al, quienes tras realizar un estudio exploratorio en Colombia con 378 estudiantes universitarios el 72.5% fue caracterizado con normopeso, 19.8% con sobrepeso y 2.5% con obesidad (49); de igual manera, Deossa Restrepo et al, quienes realizaron un estudio descriptivo en 583 estudiantes de nutrición y dietética en universidades de Colombia (439) y México (144), quienes, de 144 alumnos universitarios mexicanos, encontraron al 68.2% en normopeso, 19.6% con sobrepeso y 3.8% con obesidad (50).

Así mismo, tras la caracterización de los estudiantes universitarios, considerando su porcentaje de grasa, el 34.3% se encontraron en normopeso, 25.7% con sobrepeso y 40% restante con obesidad; estos resultados contrastan con los resultados obtenidos en el estudio realizado por Lorenzini et al en estudiantes universitarios de la Universidad Autónoma de Yucatán, quienes tras evaluar 178 sujetos mediante impedancia bioeléctrica, caracterizaron al 48.87% de la población con sobrepeso y obesidad y el 49.44% con normopeso (51); de igual forma, los resultados obtenidos en esta investigación, difieren con los de Álvarez et al., quienes tras determinar el porcentaje de grasa corporal de 970 universitarios, fueron caracterizados 68.4% con normopeso, 6% con sobrepeso y 3.5% con obesidad (52); de igual forma los resultados de esta investigación contrastaron con los de Cruz-Rodríguez et al quienes de acuerdo con su porcentaje de grasa determinado por impedancia bioeléctrica, caracterizaron al 40% con normopeso, 22% con sobrepeso y 38% con obesidad (48).

8.2 Evaluación bioquímicos

Si bien los resultados en los indicadores metabólicos de la población evaluada mostraron valores para glucosa, colesterol total y c-HDL dentro de los parámetros de normalidad para población sana, los triglicéridos llegaron a encontrarse con cifras por arriba de los 150 mg/ dl; la evidencia sigue siendo inconsistente, especialmente en personas jóvenes y sanas. Solo unos pocos estudios epidemiológicos han demostrado asociación entre algunos factores bioquímicos y relaciones F/B (53).

Desde 2009, un estudio transversal reveló que dietas que incluye cereales, pescado pequeño, galletas saladas, frutas, vegetales y aceite de oliva estaba relacionado con un perfil de riesgo de enfermedad cardiovascular beneficiosa, en contraste con dietas altas en dulces, carne roja, margarina, nueces con

sal y queso, las cuales estaban relacionados con un perfil de riesgo desfavorable en adultos (54). Un metaanálisis determinó que dietas altas en fibra tienen efectos positivos en los biomarcadores asociados con la adiposidad, la resistencia a la insulina y especialmente con la inflamación en adultos (55). Además, en un estudio con individuos de múltiples ciudades, se ha encontrado una asociación con concentraciones plasmáticas reducidas de Apo B, colesterol total y colesterol LDL. En contraste los autores encontraron que una dieta occidental, caracterizado por una mayor ingesta de huevos, pastelería, pizza, bocadillos, granos refinados, carne roja, aceites vegetales y aves de corral no (56).

Los adultos mexicanos han tenido un aumento en la hipercolesterolemia, la hipertriacilgliceridemia y las bajas tendencias de colesterol HDL desde las últimas décadas (57), siendo la anomalía lipídica más común baja HDL colesterol, una condición que promueve los factores de riesgo cardiovasculares para la morbilidad y la mortalidad además de la Carga de enfermedades crónicas en México (58). Según la última encuesta nacional de salud y nutrición realizada en 2018 (59), la prevalencia de obesidad abdominal en adultos mexicanos fue de 65.4% para los hombres y de 87.7% para las mujeres. Estos resultados son correspondientes a los obtenidos en nuestro estudio y son cercanos a los reportados para relaciones entre obesidad y diabetes (60).

8.3 Relación F/B

De acuerdo con los resultados obtenidos en las medias, se logró observar que el volumen de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* incrementa al aumento tanto del peso como del % de masa grasa, comportamiento que corresponde con el observado en la relación *Firmicutes/Bacteroidetes*.

Diversos estudios han dado cuenta que la disbiosis está relacionada con una concentración mayor de *Firmicutes*, sin embargo, estos estudios no son concluyentes en el sentido que se han encontrado resultados que difieren con esta afirmación; por su parte autores como Duan et al han referido aumento en el filo *Bacteroidetes* y disminución de *Firmicutes* en condición de obesidad, manteniendo diferencias significativas en la especie de bacterias más allá del filo, ya que 12 especies pertenecientes al filo *Firmicutes* disminuyeron en el grupo de obesidad (61).

Por su parte Qadir et al y Palmas et al, si bien refieren incremento en *Firmicutes* con detrimento de *Bacteroidetes* en el grupo con obesidad, el primero se reporta sin diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.054$) y el segundo establece que hay especies particulares de cada filo que se ven modificadas con el aumento de peso, lo que pudiera generar la variación de los resultados entre los diferentes estudios realizados en ese campo (62, 63).

Con respecto a los valores de la relación F/B , en un estudio realizado por Vaiserman et al (64) con una población de 1,550 ucranianos sanos se encontró un aumento en el filo *Firmicutes* al incremento de la edad, reportando una mediana en la relación F/B de 1.07 con un rango intercuartil de 0.42-2.06 en el grupo de 10 a 19 años y una media de 0.9 con rango intercuartil de 0.48 a 1.8 para la población de entre 20 y 29 años. Otro estudio realizado en una población Qatarí con 36 sujetos normopeso y 37 con obesidad, fue reportada una relación F/B de 1.76 ± 0.58 y 2.25 ± 1.85 , respectivamente (65).

Por su parte Mariat et al (66), determinaron una relación F/B de 10.9 para población adulta atribuyendo dichos resultados a los cambios frecuentes en la dieta y a la eficiencia en la fisiología digestiva de este grupo de edad.

En el caso de estudios en población mexicana, se ha asociado la comunidad microbiana intestinal de infantes de CDMX y Oaxaca, con obesidad e insulina plasmática en ayunas. La relación F/B se asoció positivamente con triglicéridos en Oaxaca ($P = 0.003$). Los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* se asociaron positiva y negativamente con la obesidad de CDMX y triglicéridos de la población de Oaxaca. En Oaxaca, *Verrucomicrobia* se asoció negativamente con la obesidad ($P = 0.004$). En CDMX, los géneros bacterianos *Fusicatenibacter*, *Romboutsia*, *Ruminococcaceae*, *Ruminiclostridium*, *Blautia*, *Clostridium*, *Anaerostipes* e *Intestinibacter* se asociaron con obesidad e insulina plasmática, mientras que, en Oaxaca, *Bacteroides*, *Alistipes* y *Clostridium* se asociaron con triglicéridos (70).

Para el caso del presente estudio y tras determinar la relación F/B en los grupos clasificados por IMC, se obtuvieron valores de 1.05 ± 0.90 para los sujetos normopeso, 1.17 ± 0.94 en el grupo sobrepeso y 1.33 ± 0.68 en los sujetos con obesidad. Mientras que, tras realizar la caracterización de los grupos por porcentaje de grasa, se encontraron valores de 0.68 ± 0.32 en normopeso, 1.27 ± 0.95 en sobrepeso y 1.39 ± 1.03 para obesidad. Tomando como referencia los estudios mencionados con anterioridad, los valores obtenidos son similares a los reportados tanto por clasificación de grupo de estudio por IMC como por edad. Si bien los reportes difieren de los presentados por Mariat et al. (66), no debe dejarse de lado el hecho que la relación F/B tiende a presentar variaciones significativas relacionadas con condiciones como la edad, peso corporal, factores ambientales, genéticos y tipo de análisis de determinación (64, 66). Es por ello que se puede establecer que los resultados obtenidos respecto a los valores de la relación F/B fueron confiables para el análisis de asociación, ya que se mantuvieron en cifras cercanas a las reportadas por Vaiserman et al y Stojanoc et al.

Sin embargo, actualmente existe un debate en la aplicación de la relación F/B como indicador de obesidad y sus comorbilidades. Esto es debido a la falta de correlación entre los resultados reportados

en diferentes estudios. Se ha encontrado que el incremento en el filo *Firmicutes* junto con disminución en el filo *Bacteroidetes* tiene relación en sujetos con obesidad, pero también hay relación en concentraciones elevadas de *Bacteroidetes* en personas con sobrepeso y obesidad y en la disminución de este mismo filo tras la pérdida de peso (67). Esto ha conducido a plantear la carencia de una relación específica de la obesidad y la falta de técnicas concisas en los estudios realizados (68). Sin embargo, se pueden establecer relaciones positivas con algunos marcadores bioquímicos.

8.4 Interacción glucosa y relación F/B

La microbiota intestinal y los niveles de glucosa mantienen una relación bidireccional ya que la provisión y demanda de este monosacárido determina la colonización bacteriana al ser el sustrato principal (68). En este sentido, al comparar la microbiota de sujetos normopeso con sujetos con obesidad se ha encontrado una reducción en el filo *Firmicutes*, específicamente de especies como *Faecalibacterium prausnitzii*. Incluso se ha determinado un incremento positivo de la relación *Bacteroidetes* / *Firmicutes* con la glucosa en ayunas, lo cual no tiene relación con el IMC (69).

En contraparte, autores como Qin et al. (70) postulan que la disbiosis se presenta moderadamente en sujetos con diabetes. Esta afirmación, según los autores, es debida a que la modificación en la abundancia de bacterias se genera de manera aislada. Es decir, los cambios que se han identificado suelen ser por especie más que por filo bacteriano. Sobre todo, se ha observado cambios de concentración de aquellas especies productoras de butirato como *Akkermansia muciniphila* y *Faecalibacterium prausnitzii*, las cuales tienden a reducir su concentración a la par que disminuye la tolerancia a la glucosa. Incluso, se ha logrado atribuir al butirato cierto efecto protector hacia la tolerancia a la glucosa ya que favorece la expresión de genes que promueven la protección de la barrera intestinal y limitan la translocación bacteriana (71).

Un estudio en el que se analizó la microbiota intestinal de 121 sujetos divididos en grupos de acuerdo con su estado de tolerancia a la glucosa: tolerancia normal, prediabetes y Diabetes Mellitus tipo 2; reportaron que si bien los filos predominantes fueron *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, especies como los *Clostridium*, *Dorea*, *Prevotella* y *Collinsella* se encontraban en proporciones elevadas en el grupo con diabetes, comparado con el grupo con tolerancia normal y prediabetes. Por otro lado, los géneros *Prevotella* y *Megamonas* fueron más elevados en el grupo prediabetes, comparado con el grupo con tolerancia normal. Así mismo, al realizar pruebas de asociaciones ajustadas por IMC, edad y sexo,

hubo una asociación positiva ($p = 0.045$) entre las concentraciones de glucosa en ayunas y la microbiota intestinal (72).

Así mismo algunos autores (73), coinciden en que la relación entre la microbiota intestinal y la glucosa es más consistente con géneros y especies que en filos. Esta afirmación se da tras encontrar una asociación inversa de la glucosa con géneros como *Prevotella*, *Bacteroides* y *Alistipes* (pertenecientes al filo *Bacteroidetes*) y *Akkermansia* y *Akkermansia muciniphila* (pertenecientes al filo *Firmicutes*).

Si bien los resultados obtenidos para la asociación entre los niveles de glucosa y la relación *F/B* mostraron una fuerza de asociación débil (0.140 en normopeso, 0.038 en sobrepeso y 0.311 para obesidad) debe considerarse que el presente estudio estuvo dirigido a evaluar población sin diagnóstico previo de comorbilidades propias de la obesidad. Así es que, todos los sujetos evaluados presentaron niveles de glucosa en ayunas dentro de los parámetros saludables (70 - 100 mg/ dl). Esto limitó la posibilidad de evaluar las diferencias entre población en condiciones de normoglucemia e hiperglucemia. Por otro lado, como fue descrito anteriormente, la asociación entre la microbiota intestinal y glucosa presenta mayor precisión al analizar especies bacterianas y no filos, lo que permite plantear la posibilidad de evaluar las concentraciones de especies como *Akkermansia muciniphila* y *Faecalibacterium prausnitzii* para marcadores del control glucémico, más allá de la relación *F/B*.

8.5 Perfil lipídico y relación F/B

Se ha demostrado que las concentraciones de los lípidos en la sangre son dependientes de la regulación ejercida por la microbiota intestinal. Así es que se ha determinado que la disbiosis presentada en condiciones de obesidad está relacionada con una reducción en la concentración de *Bacteroidetes* y un aumento en la de *Firmicutes*. Aunque esta alteración no ha logrado ser uniforme en estudios humanos (74), por el contrario, han sido establecidas correlaciones de mayor fortaleza al realizarla por especies bacterianas como *Akkermansia*, *Christensenellaceae* y *Tenericutes*. En específico se ha relacionado a la obesidad con las concentraciones de triglicéridos, c-HDL e IMC. En cambio, especies como *Eggerthella*, *Pasteurellacea* y *Butyrucumonas* mantuvieron asociaciones tanto con IMC como con triglicéridos y c-HDL. Además, las concentraciones de colesterol total y c-LDL han mantenido asociaciones débiles con la disbiosis, lo que plantea que la afección en el metabolismo lipídico afecta a lipoproteínas específicas (75).

Cotillard et al (76) tras analizar genes bacterianos en sujetos con sobrepeso y obesidad, demostraron una elevada incidencia de hipertrigliceridemia en individuos con un menor recuento bacteriano.

Adicionalmente, otro estudio (77) que analizó el DNA bacteriano de heces en sujetos con obesidad y de individuos no obesos, reportó aumento en la concentración de triglicéridos sérico. Así mismo, este estudio demostró que se ejerce una disminución en c-HDL debido al bajo recuento bacteriano. Sin embargo, Karlson et al (78) mediante secuenciación metagenómica en 145 muestras de heces, reportó una correlación negativa entre *Clostridium* con triglicéridos séricos y positiva con c-HDL.

En contraste, en un estudio con 893 individuos, se realizó un análisis de Unidad Taxonómica Operativa (OTU) y se estableció una correlación positiva con la alteración en las concentraciones séricas de c-HDL. Sin embargo, para el caso de la correlación con el nivel de triglicéridos esta relación no fue tan clara. Aun así, este estudio destacó la asociación de géneros como *Clostridiaceae* y *Lachnospiraceae* con la alteración en c-LDL, pero no así con el IMC. Por otro lado, el género *Eggerthellase* fue asociado con condiciones de hipertrigliceridemia y disminución en la concentración de c-HDL y finalmente *Butyricimonas* se asoció con bajos valores de triglicéridos (79).

Desde otra perspectiva Rebolledo et al (80), a partir de un análisis con electroforesis en gel de gradiente desnaturizante en un grupo control y otro grupo con dislipidemia, afirman la influencia de la microbiota intestinal en el desarrollo de dislipidemias tras establecer una correlación entre la disminución en la diversidad bacteriana y el incremento en las concentraciones séricas de triglicéridos, colesterol total y c-LDL.

Con respecto al presente, tras realizar la correlación de la relación *F/B* con el perfil lipídico (triglicéridos, colesterol total, c-HDL) se presentaron correlaciones débiles con un modelo estadísticamente no significativo entre los grupos clasificados por %MG porcentaje de grasa y los clasificados por IMC, en el grupo Normopeso (Triglicéridos $R = 0.20$, Colesterol total $R = 0.25$ y $R = c\text{-HDL } 0.18$) y Obesidad (Triglicéridos $R = 0.21$, Colesterol total $R = 0.71$ y c-HDL $R = 0.88$). Sin embargo, al ser clasificados por IIMC la fuerza de asociación fue superior. Por otro lado, el grupo Sobrepeso resultó con fuerza de asociación mayor al ser caracterizado por porcentaje de grasa (Triglicéridos $R = 0.08$, Colesterol total $R = 0.17$ y c-HDL $R = 0.26$).

Además, también debe considerarse que los sujetos evaluados presentaron valores dentro de los rangos de normalidad de colesterol total. a cifra más alta obtenida fue de 247 mg/ dL. Esto no se observó en índice de triglicéridos, los cuales llegaron a encontrarse en valores de hasta 518 mg/ dL. Por otro lado, los valores de c-HDL se encontraron en valores de hasta 35 mg/ dL en mujeres y de 38 mg/ dL en hombres. Estos valores reflejan que las concentraciones de cada uno de los marcadores bioquímicos no se encuentran relacionados del todo con la relación *F/B* encontrada.

8.6 IMC, porcentaje de grasa y relación F/B

Debido a que la microbiota intestinal está conformada en un 90% por especies bacterianas pertenecientes a los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* (81), siendo el filo *Firmicutes* el de mayor diversidad en cuanto funcionalidad relacionada con la modificación en la masa corporal (82), la relación *F/B* ha sido propuesta como biomarcador de disbiosis en obesidad.

Esta relación ha sido estudiada en su interacción con el IMC mediante secuenciación de RNAr 16s de muestras fecales en 21 sujetos control y 21 sujetos con obesidad chinos, fue encontrada una diferencia significativa entre ambos grupos. En el grupo con obesidad se observó una menor diversidad y uniformidad bacteriana. En este grupo de individuos se presentó un aumento en la abundancia de *Bacteroidetes* y un decremento en el de *Firmicutes*. Además, los autores reportaron que 16 géneros mantuvieron diferencias significativas entre ambos grupos (10 pertenecientes al filo *Firmicutes*), 4 aumentaron (*Megamonas funiformis*, *Prevotella copri* y *Fusobacterium mortiferum*) y 12 disminuyeron en el grupo con obesidad. Dentro de los microorganismos localizados se encuentran: *Faecalibacterium prausnitzii*, *Barnesiella intestinihominis*, *Alistipes putredinis*, *Bacteroides uniformis*, *Parabacteroides distasonis* y *Fusicatenibacter saccharivorans* (61).

En contraste, en un estudio realizado con 108 iraníes divididos en 32 individuos normopeso, 32 sobrepeso y 44 con obesidad, en quienes la microbiota fue determinada a partir de la purificación de DNA en muestras de saliva humana y posteriormente analizada por PCR se reportaron diferencias aunque sin significancia estadística ($p = 0.054$). Entre los individuos con obesidad y normopeso se presentó un incremento en *Firmicutes* y disminución en *Bacteroidetes*. La relación fue muy similar entre los grupos sobrepeso y normopeso, en los que se encontró una abundancia menor de *Bacteroidetes* en el grupo sobrepeso, aunque sin diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.57$) (62).

Por su parte, Palmas et al (63) compararon 46 individuos con sobrepeso/obesidad con 46 individuos control en normopeso de origen italiano. Analizando la microbiota intestinal mediante secuenciación de RNAr 16s considerando condiciones de dieta, actividad física y presencia de síndrome metabólico, los autores encontraron una disminución significativa en *Bacteroidetes*, especialmente las especies *Flavobacteriaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Shingobacteriaceae*, *Flavobacterium*, *Rikenella spp.*, *Pedobacter spp.*, *Parabacteroides spp.*, *Bacteroides spp.* en el grupo sobrepeso/obesidad. Adicionalmente, determinaron un significativo incremento de *Firmicutes* como *Lachnospiraceae*,

Gemellaceae, *Paenibacillaceae*, *Streptococcaceae*, *Thermicanaceae*, *Gemella*, *Mitsuokella*, *Streptococcus*, *Acidaminococcus* spp, *Eubacterium* spp., *Thermicanus*, *Megasphaera* spp y *Veillonella* spp. También lograron correlacionar positivamente el grupo *Firmicutes* con la grasa corporal y negativamente con la masa muscular y el nivel de actividad física.

En un estudio por meta-análisis con 32 estudios transversales sobre secuenciación de alto rendimiento de microbiota intestinal en adultos con y sin obesidad, Pinart et al (83) encontraron un aumento significativo de *Firmicutes* con un descenso de la concentración de *Bacteroidetes* en 6 estudios. Por otra parte, en 6 estudios más se reveló un significativo aumento en *Firmicutes* sin disminución significativa de la concentración de *Bacteroidetes*. A nivel de género *Bifidobacterium* y *Eggerthella* se encontraron en baja proporción con abundancia elevada *Acidaminococcus*, *Anaerococcus*, *Catenibacterium*, *Dialister*, *Dorea*, *Escherichia-Shigella*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Megasphaera*, *Prevotella*, *Roseburia*, *Streptococcus* y *Sutterella* en sujetos con obesidad. En conclusión, los autores determinaron que a pesar de las diferencias en la composición de la microbiota intestinal, en las que persiste la disminución en la diversidad bacteriana en sujetos obesos, la heterogeneidad en los resultados dificulta establecer una relación clara. Adicionalmente, ellos sugieren una homogeneización en la extracción de DNA, en los métodos de amplificación o de secuenciación de alto rendimiento y en la clasificación taxonómica.

Tras la evaluación de 32 estudios mediante una revisión sistemática, en la cual se determinaron las diferencias de la microbiota intestinal en población obesa y no obesa. Se ha reportado una baja relación *F/B* en población con obesidad, mientras que seis más presentaron resultados opuestos al encontrar una relación *F/B* mayor en sujetos obesos. En tanto que, a nivel de género, los individuos con obesidad presentaron una mayor proporción de *Lactobacillus reuteri*, *Clostridium* cluster IV y XIV, *Clostridium leptum*, *Acidaminococcus* intestine, *Actinomyces meyeri*, *Atopobium parvulum*, *Bacteroides vulgates*, *Eubacterium hadrum*, *Lkebsiella pneumonia*, *Roseburia faecies*, *Bacteroides fragilis*, *Blautia wexlerae*, *Escherichia coli* y *Bifidobacterium bifidum*. Adicionalmente se observó una menor abundancia en *Akkermansia muciniphila*, *Clostridium leptum*, *Ruminococcus flavefaciens* spp., *Clostridium perfringens*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Methanobrevibacter smithii*, *Bifidoacterium animalis*, *Escherichia coli*, *Ruminococcus lactaris*, *Rothia mucilaginoso*, *Bifidobacterium adolescentis* *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Clostridium coccoides*, *Clostridium leptum*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium citroniae*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium desmolans*, *Eubacterium fissicatena*, and *Haldemanian filiformis*. De esta manera se estableció que, si bien la obesidad se ve fuertemente influenciada por la

microbiota intestinal, la complejidad en el estudio de esta requiere el desarrollo de técnicas que permitan tomar en cuenta factores no controlables como la dieta, nivel de actividad física, sexo y el lugar de origen (84).

Todos estos resultados reportados tienen una correlación con los resultados obtenidos durante esta investigación. Si bien la relación *F/B* mostró un incremento en las medias tanto en los grupos clasificados por porcentaje de grasa como por IMC, tras realizar la correlación entre ambas variables las fuerzas de asociación fueron débiles. Estos resultados se contraponen a los obtenidos en población china, en quienes la abundancia de *Bacteroidetes* fue mayor en el grupo con obesidad, no obstante, tienen relación con los resultados del estudio realizado en población iraní. A pesar de que en este último reporte la extracción de DNA fue a partir de muestras de saliva y no de heces, la relación *F/B* fue mayor en el incremento del peso. Tampoco presentaron diferencias estadísticamente significativas, pero se ha propuesto considerar condiciones como la dieta y nivel de actividad física para realizar los estudios de correlación.

Adicionalmente, los reportes de meta-análisis son más reveladores en cuanto a las asociaciones de relación *F/B* con enfermedades como obesidad o sobrepeso. Se debería de colocar como un punto de metodología de los meta-análisis tanto la fuente de DNA como el diseño de cebadores para la amplificación. De igual manera los análisis bioinformáticos son el acercamiento más próximo para el diseño de metodologías que permitan establecer las relaciones entre poblaciones microbianas de la microbiota intestinal con marcadores bioquímicos. Esto debido a que son pocos los estudios que consideran factores relacionados al estilo de vida como el tipo de dieta, nivel de actividad física e incluso salud cardiometabólica, condición con la que se ha logrado observar una mayor diferencia en la abundancia microbiana. (85).

9. Conclusión

Fueron evaluados 70 jóvenes universitarios, a quienes se clasificó en tres grupos de estudio (normopeso, sobrepeso y obesidad) de acuerdo con su IMC el grupo normopeso contó con 43 sujetos (61.4%), el de sobrepeso con 18 (25.7%) y el de obesidad con 9 (12.9%), mientras que, al realizar la misma clasificación, pero por porcentaje de grasa, el grupo normopeso estuvo conformado por 24 (34.3%) sujetos, el grupo de sobrepeso con 18 (25.7%) sujetos y el grupo obesidad con los 28 (40%) restantes; mismos que se encontraron con valores en parámetros de normalidad para glucosa, colesterol total y c-HDL, mientras que para triglicéridos, hubo quienes superaron los 150 mg/ dl.

Por otro lado, aun cuando se encontró un incremento en la relación *F/B* entre los diferentes grupos de estudio, la fuerza de asociación entre esta, los indicadores metabólicos y el porcentaje de grasa fue débil, con esto se confirmó la hipótesis alterna propuesta. Los resultados obtenidos en este estudio permiten conocer el comportamiento esperado en la distribución de la microbiota intestinal en población mexicana de adultos universitarios jóvenes. Además, también se determinan las futuras consideraciones que deben tomarse para lograr establecer la relación que guardan las bacterias involucradas en la disbiosis con la obesidad. Todo ello con el objetivo de plantear estrategias para el control de enfermedades a partir de intervenciones dirigidas ya sea al incremento de especies simbióticas o al control de especies patógenas.

Para ello, debe contemplarse la realización de análisis en los que más allá de la identificación de filos, sean identificados géneros específicos de bacterias. Dentro de ellos la presencia y concentración de *Akkermansia muciniphila* y *Faecalibacterium prausnitzii*, que, al ser especies altamente productoras de butirato, promueven mejoras significativas sobre la salud de su hospedero tanto a nivel del control de la glucosa, lípidos séricos y peso corporal.

En cuanto al diseño metodológico, el empleado para el presente, concuerda con diversos estudios en la parte de la extracción de DNA a partir de muestras de material fecal, en la recolección, almacenamiento y procesamiento de las muestras de heces. Incluso, el método de extracción de DNA tiene correlación directa con los estudios reportados, sin embargo, se sugiere el uso de un termociclador en tiempo real, en lugar del termociclador en punto final como el que fue utilizado, para realizar una determinación de mayor precisión en la cuantificación microbiana.

Finalmente, y como se mencionó con anterioridad, también debe ser considerada la determinación del tipo de dieta, nivel de actividad física y salud cardiovascular para lograr establecer relaciones

significativas entre la modificación de la abundancia bacteriana y el control metabólico en los individuos.

Referencias

1. González S, CE; Días B, Y; Mendizabal-Ruíz, AP; Medina D, E y Morales, JA. Prevalencia de obesidad y perfil lipídico alterado en jóvenes universitarios. *Nutr Hosp.* 2014; 29(2): 315-321
2. Ledo-Varela, MT, Luis R, DA; González-Saagrado, M; Izaola J, O; Conde V, R y Aller dlf, R. Características nutricionales y estilos de vida en universitarios. *Nutr Hosp.* 2011; 26 (4): 0212-1611
3. Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional De Salud Y Nutrición 2018. Presentación de Resultados. Consultado: mayo 2020. Disponible en: https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf
4. Organización Mundial de la Salud (2020). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. Consultado: mayo 2020. Disponible en: https://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood_what/es/
5. Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados por Entidad Federativa Consultado: mayo 2020. Disponible en: <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2012/doctos/informes/Hidalgo-OCT.pdf>
6. Gómez-Landeros, O; Galván A, GC; Aranda-Rodríguez, R; Herrera-Chacón, C y Granados-Cosme, JA. Prevalencia de sobrepeso, obesidad y antecedentes de enfermedad crónica en universitarios mexicanos. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2018; 56(5): 462-467
7. Sánchez, M; Panahi, S y Tremblay, A. Childhood Obesity: a role for gut microbiota?. *Int J Environ Res Public Health*, 2015; 12 (1): 162-175
8. Kobyliak, N; Virchenko, O and Falalyeyeva T. Pathophysiological role of host microbiota in the development of obesity. *Nutr J*, 2016; 15 (43)
9. Breban, M. Gut microbiota and inflammatory joint diseases. *Joint Bone Spine*, 2016. 83(6), 645-649. Caballero, S., & Pamer,
10. Thakur, B. K., Saha, P., Banik, G., Saha, D. R., Grover, S., Batish, V. K., & Das, S. Live and heat-killed probiotic *Lactobacillus casei* Lbs2 protects from experimental colitis through Toll-like receptor 2-dependent induction of T-regulatory response. *International immunopharmacology*, 2016. 36, 39-50.

11. Ussar, S., Griffin, N. W., Bezy, O., Fujisaka, S., Vienberg, S., Softic, S., ... & Kahn, C. R. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet modulate the predisposition to obesity and metabolic syndrome. *Cell metabolism*, 2015. 22(3), 516-530.
12. Gibson, M. K., Pesesky, M. W., & Dantas, G. The yin and yang of bacterial resilience in the human gut microbiota. *Journal of molecular biology*, 2014. 426(23), 3866-3876.
13. Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., & Knight, R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 2012. 148(6), 1258-1270.
14. Martínez, I., Muller, C. E., & Walter, J. Long-term temporal analysis of the human fecal microbiota revealed a stable core of dominant bacterial species. *PloS one*, 2013. 8(7), e69621.
15. Masís B, A. & I. E. G. Generalidades de la Microbiota Intestinal y su rol en algunas patologías. *Revista Clínica de la Escuela de Medicina UCR-HSJD*, 2013; 3(12), pp. 6-13.
16. Santacruz López, Y. A. Influencia de la microbiota intestinal en la obesidad, Valencia., 2012.
17. Tinahones, F.,. Microbiota intestinal y obesidad. *Nutrición Clínica en Medicina*, 2013; 7(2), pp. 74-86.
18. Qin, J., Li, Y., Cai, Z., Li, S., Zhu, J., Zhang, F., ... & Peng, Y. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 2012. 490(7418), 55-60.
19. Claesson, M. J., Cusack, S., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., de Weerd, H., Flannery, E., ... & Stanton, C. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011. 108(Supplement 1), 4586-4591.
20. Franceschi, C. Inflammaging as a major characteristic of old people: can it be prevented or cured?. *Nutrition reviews*, 2007. 65(suppl_3), S173-S176.
21. Rinninella, A; Raoul, P; Cintoni, M; Franceschi, F; Donato Miggiano, GA; Gasbarrinni, A and Mele, MC. What is the healthy gut microbiota composition?, A changing ecosystem across age, enviromen, diet and diseases, 2019; 7 (1)
22. Gotteland, M. El papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la obesidad y de la diabetes tipo-2. *Rev. chil. endocrinol*, 2013; 6(4), pp. 155-162.
23. Koliada, A., Syzenko, G., MOseiko, V. & Budovska, L. et al.. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in adult Ukranian population. *BMC Microbiology*. 2017.
24. Kovatcheva-Datchary, P. & Tremalori, V. & B. The Gut Microbiota. En: *The Prokaryotes*. Berlin: 2013 Springer, pp. 21 - 40.

25. Kunnackal, J. G. a. E. M. G. The gut microbiome and Obesity. *Curr Oncol Rep.* 2016
26. Jandhyala, SM; Talukdar, R; Subramanyam, C; Vuyyuru, H; Sasikala, M and Reddy, DN. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*, 2015; 21 (29).
27. Farías N, M., & Silva B, C. Microbiota Intestinal: Rol en la obesidad. *Rev Chil Nutr*, 2011; 38(2), 228 - 233.
28. Ludwig W., Schleifer KH., Whitman W.B. Revised road map to the phylum Firmicutes. In: De Vos P. et al.. (eds) *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. 2009; Springer, New York, NY
29. Krieg, N.R., J. T. Staley, D. R. Brown, B. P. Hedlund, B. J. Paster, N. L. Ward, W. Ludwig y W. B. Whitman. Volume 4: The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes.; *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. 2009; Springer, New York, NY.
30. Johnson, E.L., Heaver, S.L., Walters, W.A. y Ley, R.E. Microbiome and metabolic disease: revisiting the bacterial phylum Bacteroidetes. *Journal of Molecular Medicine*, 2017; 95(1):1-8
31. Valdés AM; Walter, J; Segal, E. and Specto, TD. Role of the gut microbiota in nutrition and health, *BMJ*; 2018, 361
32. Suverza, A. & H. K. El ABCD de la evaluación del estado de nutrición. México, D. F.: McGraw Hill, 2010
33. Ávila Rosas, H. & Porta Lezama, M. & C. E. V. E. Evaluación del Estado de Nutrición. En: *Nutriología Médica*. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana, 2015; pp. 114-162.
34. Ladino Meléndez, I e Velázquez G, OJ. Nutridatos En: *NUTRIDATOS*. Manual de Nutrición Clínica, Medellín, Colombia; Health Book's Editorial, 2010; pag 230
35. Alvero Cruz, J. R., Diego Acosta, Á. M. & Fernández Pastor, V. J. & G. R. J., Métodos de evaluación de la composición corporal: evidencias actuales. *Archivos de medicina del deporte*, 2004; pp. 535-538
36. Chait, A and den Hartingh LJ. Adipose tissue distribution, inflammation and its metabolic consequences, including diabetes and cardiovascular disease, *Front Cardiovasc med*, 2020; 7(22).

37. Tinahones, F. J. La importancia de la microbiota en la obesidad. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*, 2017; 8(Suppl).
38. Kunnackal John, G; Wang, L; Nanavati, J; Twose, C; Singh, R and Mullin, G, Dietary alteration of the gut microbiome and its impact on weight and fat mass: A systemic review and meta-analysis, *Genes*; 2018, 9 (3)
39. Mitev, K and Taleski, V., Association between the gut microbiota and obesity, *J Med Sci*, 2019; 7 (12), 2050-2056
40. Bäckhed, F. Programación del metabolismo del huésped por la microbiota intestinal. *Ann Nutr Metab*, 2011; pp. 44-52.
41. Sanz, Y. & Santacruz, A. & D. J. Influencia de la microbiota intestinal en la obesidad y las alteraciones del metabolismo. *Acta Pediatr Esp*, 2009; 67(9), pp. 437 - 442.
42. Álvarez R, V. & Puig P, Y. & R. A. M. Microbiota intestinal, sistema inmune y obesidad. *Rev Cubana Invest Biomed*, 2010; 29(3), pp. 364 - 397.
43. Santacruz López, YA, Influencia de la microbiota intestinal en la obesidad (Tesis de doctorado). Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia; 2012.
44. Singh, RK; Chang, HW, Yan, D; Lee, KM; Ucmak, D; Wong, K; Aborouk, M and et al., Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health, *J Transl Med*, 2017; 15.
45. Ladino Meléndez, L., & Velásquez G., Ó. J. Valoración Nutricional Bioquímica. En: NUTRIDATOS. Manual de Nutrición Clínica, Medellín, Colombia; Health Book's Editorial, 2010; págs. 258 – 306
46. Morales, P., & Brignardello, J. La microbiota intestinal: Un nuevo actor en el desarrollo de la obesidad. *Rev Med Chile*, 2010; (138), 1020 - 1027.
47. Vaiserman, A; Romanenko, M; Piven, L; et al. Differences in the gut Firmicutes to Bacteroidetes ratio across age groups in Healthy Ukrainian population. *BMC Microbiology*. 2020. 20. (221)
48. Cruz-Rodríguez, J; González-Vázquez, R; Reyes-Castillo, P; Nájera-Medina, O; Rofríguez-Magallanes, MM; Días-García, R y Azaola-Espinosa, A. Ingesta alimentaria y composición corporal asociadas a síndrome metabólico en estudiantes universitarios. *Rev. Mex. De trastor alim*; 2019 10. (1)

49. Ramos, OA; Jaimes, MA y Lasso, AC. Prevalencias y factores relacionados de sobrepeso y obesidad en estudiantes de una universidad pública. *Rev. Esp. Nutr Comunitaria*: 2017; 23 (3)
50. Deossa R; GC; Segura B, MV y Restrepo B, LF. Evaluación del estado nutricional y estilo de vida en universitarios de nutrición y dietética de México y Colombia. 2021. 20 (4)
51. Lorenzini, R; Betancur-Ancona, DA; Chel-Guerrero, LA; Segura-Campos, MR y Castellanos-Ruelas, AF. Estado nutricional en relación con el estilo de vida de estudiantes universitarios mexicanos. *Nutr Hosp*. 2015. 32 (1)
52. Álvarez G, MA; Hernández P; MR; Jiménez M, M y Durán D, Ángel. Estilo de vida y presencia de síndrome metabólico en estudiantes universitarios. *Diferencias por sexo*. 2014. 32 (1)
53. Schulze MB, Hoffmann K, Kroke A, Boeing H. Risk of hypertension among women in the EPIC-Potsdam study: comparison of relative risk estimates for exploratory and hypothesis-oriented dietary patterns. *Am J Epidemiol*. 2003 ;158:365-73. DOI: 10.1093/aje/kwg156
54. Panagiotakos D, Pitsavos C, Chrysohoou C, Palliou K, Lentzas I, Skoumas I, et al. Dietary patterns and 5-year incidence of cardiovascular disease: a multivariate analysis of the ATTICA study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009;19:253-63. DOI: 10.1016/j.numecd.2008.06.005
55. Neale EP, Batterham MJ, Tapsell LC. Consumption of a healthy dietary pattern results in significant reductions in C-reactive protein levels in adults: a meta-analysis. *Nutr Res* 2016;36(5):391-401. DOI: 10.1016/j.nutres.2016.02.009
56. Poggio R, Elorriaga N, Gutiérrez L, Irazola V, Rubinstein A, Danaei G. Associations between dietary patterns and serum lipids, apo and C-reactive protein in an adult population: evidence from a multi-city cohort in South America. *Br J Nutr* 2017;117(4):548-55. DOI: 10.1017/S0007114517000514
57. Villalpando S, Shamah-Levy T, Rojas R, Aguilar-Salinas CA. Trends for type 2 diabetes and other cardiovascular risk factors in Mexico from 1993-2006. *Salud Publica Mex* 2010;52(1):S72-9
58. Escobedo-de la Peña J, De Jesús Pérez R, Schargrotsky H, Champagne B. Prevalencia de dislipidemias en la ciudad de México y su asociación con otros factores de riesgo cardiovascular. Resultados del estudio CARMELA. *Gac Med Mex* 2014;150:128-36.

59. Secretaría de Salud. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018. ENSANUT 2018. Informe final de resultados. Instituto Nacional de Salud Pública; 2016. Available from: https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf
60. Alegre-Díaz J, Herrington W, López-Cervantes M, Gnatiuc L, Ramírez R, Hill M, et al. Diabetes and cause-specific mortality in Mexico City. *N Engl J Med* 2016;375(20):1961-71.
61. Duan, M; Wang, Y; Zhang, Q; MinGuo, RZ and Zheng, Huajun. Characteristics of gut microbiota in people with obesity. *Plos one*. 2021. 16 (8)
62. Qadir, RM and Assafi, MD. The association between body mass index and the oral Firmicutes and Bacteroidetes profiles of healthy individuals. *Malays Fam Physician*. 2021. 16 (3)
63. Palmas, V; Pisanu, S; Madau, V; et al. Gut microbiota markers associated with obesity and overweight in Italian adults. *Sci Per*. 2021. 11.
64. Vaiserman, A; Romanenko, M; Piven, L; et al. Differences in the gut Firmicutes to Bacteroidetes ratio across age groups in Healthy Ukrainian population. *BMC Microbiology*. 2020. 20. (221)
65. Stojanov, S; Berlec, Ales; Strukelj, B. The Influence of probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory Bowel Disease. *Microorganisms*. 2020. 8 (11)
66. Mariat, D; Firmeza, O; Levenez, F; Guimaraes, VD, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiology*. 2009. 9 (123)
67. Vazquez-Moreno, M., Perez-Herrera, A., Locia-Morales, D., Dizzel, S., Meyre, D., Stearns, J. C., & Cruz, M. (2021). Association of gut microbiome with fasting triglycerides, fasting insulin and obesity status in Mexican children. *Pediatric Obesity*, 16(5), e12748.
68. Anhe, FF; Barra, NG and Schertzer, JD. Glucose alters the symbiotic relationships between gut microbiota and host physiology. *Amer Jour Physiol Endoc Metabolism*. 2020. 38 (2)
69. Greiner, T and Backhed F. Effects of the gut microbiota on obesity and glucose homeostasis. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2011. 22 (4)
70. Qin J; Li Y; Cai Z; et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012 ;490.
71. Festi, D; Schiumerini, R; Eusebi, LH; et al. Gut microbiota and metabolic syndrome. *World J Gastroenterol*. 2014. 20 (43)

72. Zhang, X; Shen, D; Zhiwei, C; et al. Human Gut Microbiota Changes Reveal the Progression of Glucose Intolerance. *PLoS ONE*. 2013. 8 (8)
73. Palmas-Bedard, MSA; Costabile, G; Vetrani, C; et al. The human gut microbiota and glucose metabolism: a scoping review of key bacteria and the potential role of SCFAs. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2022. 114 (4)
74. Yijing, Y; Raka, F and Adeli, C. The role of the gut microbiota in lipid and lipoprotein metabolism. *J Clin Med*. 2019. 8 (12)
75. Ghazalpour, A; Cespedes, I; Bennett, B and Allayee, H. Expanding role of the gut microbiota in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2016, 27 (2).
76. Cotillard, A; Kennedy, SP; Kong, LC; et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013. 500
77. LeChatelier, E; Nielsen, T; Qin, J; et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013. 500
78. Karlsson, FH; Tremaroli, V; Nookaew; et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013. 498
79. Fu, J; Bonder, MJ; Cenit MC; et al. The gut microbiome contributes to a substantial proportion of the variation in blood lipids. *Circ Res*. 2015. 117
80. Rebolledo, C; Cuevas, A; Zambrano, T; et al. Bacterial community profile of the gut microbiota differs between hypercholesterolemic subjects and control. *Biomed Res*. 2017.
81. Liu BN; Liu, XT and Wang JH. Gut microbiota in obesity. *World J Gastroenterol*. 2021. 27 (25)
82. Grigor'eva, IN. Gallstone Disease, Obesity and the Firmicutes/Bacteroidetes Ratio as a Possible Biomarker of Gut Dysbiosis. *J. Pers Med*. 2021. 11 (1)
83. Pinart, M; Dotsch, A; Schlicht, K; Laudes, M; Bouwman, J; Forslund SK; Pischon, T and Nimptsch, K. Gut microbiome composition in obese and non-obese persons: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2021. 14 (1).
84. Covesy, L, Masterson, D and Lopes R. E. Profile of the gut microbiota of adults with obesity. *Eur J Clin Nutr*. 2020. 74
85. Magne, F; Gotteland, M; Gauthier, L, et al. The firmicutes/Bacteroidetes ratio: A relevant marker of gut dysbiosis in obese patients?. *Nutrients*. 2020. 12 (5)

ANEXOS

Anexo 1. Carta de consentimiento informado

Carta de consentimiento informado

San Agustín Tlaxiaca, Hgo., a ____ de _____ de 2021

La Maestría en Nutrición Clínica del Área Académica de Nutrición del Instituto de Ciencias de la Salud perteneciente a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, está realizando un proyecto de investigación clínica, con el objetivo de establecer la asociación de los filos Bacteroidetes y Firmicutes de la microbiota intestinal con la composición corporal e indicadores metabólicos en adultos jóvenes de entre 18 y 25 años de edad, para determinar si la composición de la microbiota intestinal tiene influencia en la alteración de la composición corporal e indicadores metabólicos.

Su participación consistirá en:

1) Permitir la toma de talla, por medio de un estadímetro (2 min), toma de peso, masa grasa y masa libre de grasa mediante el BOD-POD (15 min), para el cual deberá presentarse con ropa ligera (licra y/o top o traje de baño) e ingresar al dispositivo, permaneciendo sentado, sin moverse; 2) Permitir la extracción de 5 mL de sangre plasmática (1 cedita) para la medición de glucosa, colesterol total, c-HDL, c-LDL y triglicéridos (15 min), 3) Proporcionar una muestra fecal contenida en un frasco esterilizado (que le será previamente proporcionado) (10 min). Presentarse en ayuno mínimo de 8 horas, pero no mayor a 10 horas para todas las mediciones y 4) Responder una serie de preguntas en relación a sus horarios de alimentación y alimentos consumidos (15 min).

Su participación no implicará costo alguno para usted, y recibirá los resultados de su evaluación, por correo electrónico, si usted así lo solicita, y hacemos de su conocimiento que el personal a cargo de este proyecto queda en entera disposición de resolver dudas sobre todos los procedimientos a realizar, antes mencionados y usted tiene la libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento con previo aviso.

La intervención no genera ningún riesgo para su salud o integridad, quizás se puede presentar un hematoma al momento de la extracción sanguínea, en caso de que se mueva pero desaparecería en un par de días sin mayor complicación. La información proporcionada, será de carácter CONFIDENCIAL y utilizada únicamente con fines de investigación.

Yo _____ autorizo mi participación en el estudio antes mencionado, teniendo pleno conocimiento del procedimiento a seguir,

Firma

RESPONSABLES DE LA INVESTIGACIÓN

L.N Ana Teresa Nez Castro. Área Académica de Nutrición. Instituto de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Tel: 771-110-8669 anateresanez@outlook.es

M.en N.C. Arianna Omaña Covarrubias. Área Académica de Nutrición. Instituto de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Tel: 771-71-72-000 ext 4321 y 4322 aomana@uaeh.edu.mx

Anexo 2. Protocolo de extracción y purificación de las muestras de heces con el Rapid Genomic DNA Extraction Kit

Contenido del kit:

- Buffer TBP (40 ml)
- Buffer Universal de digestión (10 ml)
- Buffer PR (4 ml)
- Proteinasa K (1.2 ml)
- Buffer TE (50 ml)

Procedimiento:

1. Mezclar con 5 ug de heces con 100 ul de H₂O mediante vórtex por 5 minutos
2. Transferir 200 ul (cortando la punta con filtro ligeramente) de la mezcla anterior a un tubo de 1.5 ml, añadir 600 ul de Buffer TBP, mezclar con vórtex e incubar 1 minuto a temperatura ambiente.
3. Centrifugar a 12,000 x g por 1 minuto a temperatura ambiente, desechar el sobrenadante cuidadosamente.
4. Agregar 500 ul de Buffer TE suspendiendo el pellet, centrifugar a 12,000 x g por 1 minuto a temperatura ambiente y descartar cuidadosamente el sobrenadante
5. Añadir 180 ul de Buffer Digestion y 20 ul de proteinasa K, mezclar minuciosamente e incubar a 56 °C por 20 minutos
6. Agregar 60 ul de Buffer PR, mezclar invirtiendo de 5-10 veces, incubar a 20°C por 20 minutos.
7. Centrifugar a 12,000 x g por 5 minutos a temperatura ambiente. Transferir 300 ul de sobrenadante a un tubo nuevo de 1.5 ml.
8. Agregar 300 ul de isopropanol a la solución anterior, mezclar invirtiendo 5 veces el tubo e incubar a temperatura ambiente por 5 minutos. Centrifugar a 12,000 x g por 5 minutos y descartar cuidadosamente el sobrenadante.
9. Agregar 1 ml de etanol al 75% previamente enfriado, mezclar invirtiendo el tubo 10 veces y centrifugar a 12,000 x g por 1 minuto y descartar el sobrenadante.
10. Repetir paso 9.
11. Dejar secar el pellet a temperatura ambiente con el tubo destapado por 5 minutos
12. Agregar 50 ul de Buffer TE para disolver el pellet, almacenar a -20° C hasta ser analizado.

Anexo 3. Dictamen del comité de ética

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Instituto de Ciencias de la Salud
School of Health Sciences
Comité de ética e investigación
Ethics and research committee

San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo a 16 de Agosto del 2020

Oficio Comiteei.icsa 2020/14

Asunto: DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN.

Mtra. Arianna Omaña Covarrubias
Investigadora Principal

Título del Proyecto: **Asociación de los filos Firmicutes y Bacteroidetes del microbioma con la composición corporal e indicadores metabólicos en adultos jóvenes universitarios.**

Código asignado por el Comité: **CEI-2020-014**

Le informamos que su proyecto de referencia ha sido evaluado por el Comité y las opiniones acerca de los documentos presentados se encuentran a continuación:

Decisión	Número de aprobación
APROBADO	2020-14

Este protocolo tiene vigencia del 16 de agosto de 2020 al 15 de julio de 2021.

En caso de requerir una ampliación, le rogamos tenga en cuenta que deberá enviar al Comité un **reporte de progreso de avance de su proyecto** al menos 60 días antes de la fecha de término de su vigencia.

Atentamente

Dr. José Sócrates López Noguezola
Presidente del Comité



Para la validación de este documento, informe el siguiente código en la sección Validador de documentos del sitio web del

Comité: **LC?k48TBy-#uRy[**

<https://sites.google.com/view/comiteei-icsa/validador-de-documentos>

Circuito ex-Hacienda La Concepción s/n Carretera
Pachuca-Actopan, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo.
México. C.P. 42160
Teléfono: +52(771) 71 72000 ext.4300
comiteei.icsa@gmail.com

www.uaeh.edu.mx

Anexo 4. Volúmenes de *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y relación *Firmicutes/Bacteroidetes* por grupos de estudio clasificados por IMC

No. de sujeto	Normopeso		
	Volumen de <i>Firmicutes</i>	Volumen de <i>Bacteroidetes</i>	Relación <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i>
1	8.178	16.994	0.481
3	12.122	34.22	0.354
4	27.27	34.365	0.794
5	15.95	32.103	0.497
6	47.366	71.253	0.665
9	10.136	15.907	0.637
10	88.16	110.52	0.798
14	172.492	105.125	1.641
15	288.057	440.597	0.654
18	97.295	141.665	0.687
19	121.017	122.612	0.987
20	61.596	76.966	0.800
21	51.997	84.68	0.614
22	198.51	205.53	0.966
23	98.339	117.972	0.834
24	584.669	1,291.83	0.453
26	392.858	321.6	1.222
29	188.935	221.496	0.853
32	756.32	490.883	1.541
35	37.666	71.108	0.530
40	91.62	131.167	0.698
41	76.589	116.986	0.655
42	185.629	303.572	0.611
43	170.441	186.963	0.912
45	159.048	162.052	0.981
46	136.532	77.72	1.757
47	703.569	149.901	4.694
48	102.801	88.566	1.161
50	102.275	86.507	1.182
54	286.44	198.418	1.444
55	43.181	44.341	0.974
60	42.137	95.41	0.442
63	105.605	139.838	0.755
65	150.779	147.291	1.024
66	76.067	196.388	0.387
67	86.362	154.425	0.559
68	87.812	45.559	1.927
70	97.092	288.608	0.336
71	34.626	49.387	0.701
72	22.082	320.682	0.069

73	118.291	165.743	0.714
82	253.592	250.56	1.012
84	155.187	225.243	0.689

SOBREPESO

No. de sujeto	Volumen de <i>Firmicutes</i>	Volumen de <i>Bacteroidetes</i>	Relación <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i>
8	52.432	103.501	0.507
11	42.34	48.856	0.867
13	190.124	112.375	1.692
27	94.264	68.574	1.375
30	181.337	65.25	2.779
31	223.96	194.735	1.150
33	224.576	475.136	0.473
36	200.535	45.037	4.453
37	38.251	49.967	0.766
38	373.104	238.689	1.563
44	242.962	194.996	1.246
49	82.216	68.614	1.198
53	471.325	98.136	4.803
59	40.745	70.006	0.582
61	55.158	91.408	0.603
62	92.858	194.039	0.479
64	148.053	127.136	1.165
83	129.175	141.645	0.912

OBESIDAD

No. de sujeto	Volumen de <i>Firmicutes</i>	Volumen de <i>Bacteroidetes</i>	Relación <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i>
12	13.311	8.874	1.500
16	356.195	213.576	1.668
17	180.888	176.015	1.028
28	260.488	202.213	1.288
34	42.25	22.011	1.919
39	199.962	182.091	1.098
51	143.056	129.224	1.107
57	66.774	42.485	1.572
69	581.337	584.408	0.995

Anexo 5. Volúmenes de *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y relación *Firmicutes/Bacteroidetes* por grupos de estudio clasificados por % de masa grasa

Normopeso			
No. de sujeto	Volumen de <i>Firmicutes</i>	Volumen de <i>Bacteroidetes</i>	Relación <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i>
1	8.178	16.994	0.481
3	12.122	34.22	0.354
4	7.27	34.365	0.212
5	15.95	32.103	0.497
6	7.366	71.253	0.103
8	52.432	103.501	0.507
9	1.136	15.907	0.071
15	288.057	440.597	0.654
18	97.295	141.665	0.687
19	121.017	122.612	0.987
20	61.596	76.966	0.800
22	198.51	205.53	0.966
29	188.935	1221.496	0.155
35	27.666	71.108	0.389
45	159.048	162.052	0.981
46	136.532	77.72	1.757
55	43.181	44.341	0.974
60	42.137	95.41	0.442
66	76.067	196.388	0.387
70	97.092	288.608	0.336
71	34.626	49.387	0.701
72	22.082	320.682	0.069
73	118.291	165.743	0.714
84	155.187	225.243	0.689
SOBREPESO			
No. de sujeto	Volumen de <i>Firmicutes</i>	Volumen de <i>Bacteroidetes</i>	Relación <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i>
13	190.124	112.375	1.692
14	172.492	105.125	1.641
23	98.339	117.972	0.834
26	392.858	321.6	1.222
32	756.32	490.883	1.541
37	38.251	49.967	0.766
41	76.589	116.986	0.655
42	185.629	303.572	0.611
43	70.441	186.963	0.377
47	703.569	149.901	4.694
50	102.275	86.507	1.182
54	286.44	198.418	1.444
59	40.745	70.006	0.582

61	55.158	91.408	0.603
65	50.779	147.291	0.345
67	86.362	154.425	0.559
68	87.812	45.559	1.927
82	53.592	250.56	0.214

OBESIDAD

No. de sujeto	Volumen de <i>Firmicutes</i>	Volumen de <i>Bacteroidetes</i>	Relación <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i>
10	88.16	110.52	0.798
11	42.34	48.856	0.867
12	13.311	8.874	1.500
16	356.195	213.576	1.668
17	179.888	176.015	1.022
21	51.997	84.68	0.614
24	584.669	1,291.83	0.453
27	94.264	68.574	1.375
28	260.488	202.213	1.288
30	181.337	65.25	2.779
31	223.96	194.735	1.150
33	224.576	475.136	0.473
34	42.25	22.011	1.919
36	200.535	45.037	4.453
38	373.104	238.689	1.563
39	199.962	182.091	1.098
40	51.62	131.167	0.394
44	242.962	194.996	1.246
48	102.801	88.566	1.161
49	82.216	68.614	1.198
51	143.056	129.224	1.107
53	471.325	98.136	4.803
57	66.774	42.485	1.572
62	92.858	194.039	0.479
63	50.605	139.838	0.362
64	48.053	127.136	0.378
69	181.337	584.408	0.310
83	129.175	141.645	0.912