

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE MEDICINA Y PSICOLOGÍA**



**CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA  
INTESTINAL, COMPOSICIÓN CORPORAL Y PERFIL DE LÍPIDOS  
POSTERIOR A UNA DIETA CETOGÉNICA ISOCALÓRICA, EN  
PACIENTES OBESOS Y NO OBESOS; EN POBLACIÓN DE  
TIJUANA, B.C.**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS**

PRESENTA:  
**BLANCA JAZMIN FRANQUEZ FLORES**

**DIRECTOR DE TESIS  
DRA. ANA LAURA MARTÍNEZ MARTÍNEZ**

**CO-DIRECTOR DE TESIS  
DRA. ESTEFANÍA OCHOA RUIZ**

TIJUANA, B.C., MÉXICO

DICIEMBRE, 2022

## **APROBACIÓN DE LA TESIS**

“Cambios en la composición de la microbiota intestinal, composición corporal y perfil de lípidos posterior a una dieta cetogénica isocalórica, en pacientes obesos y no obesos; en población de Tijuana, BC.”, como requisito parcial para obtener el grado de

## **MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS**

ha sido aprobado y aceptado por:

**Dr. Ana Laura Martínez Martínez**

DIRECTORA DE TESIS

**Dra. Estefanía Ochoa Ruíz**

CO-DIRECTORA DE TESIS

**Dra. Aracely Serrano Medina**

SINODAL

**Dra. María Asunción Lago Lestón**

SINODAL

## **DECLARACIÓN INSTITUCIONAL**

**“CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL,  
COMPOSICIÓN CORPORAL Y PERFIL DE LÍPIDOS POSTERIOR A UNA  
DIETA CETOGÉNICA ISOCALÓRICA, EN PACIENTES OBESOS Y NO  
OBESOS; EN POBLACIÓN DE TIJUANA, BC.”**

Se permite el uso académico de información contenida en esta tesis, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente al autor. Para la reproducción parcial o total de este documento con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de las autoridades que avalan esta tesis.

**Dra. Susana González Reyes**

**RESPONSABLE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS**

**Dra. Julieta Yadira Islas Limón**

**DIRECTORA DE LA FACULTAD DE MEDICINA Y PSICOLOGÍA**

**Dr. Carlos José Martín Vera Hernández**

**SUB-DIRECTOR DE LA FACULTAD DE MEDICINA Y PSICOLOGÍA**

## **DEDICATORIA**

A mi madre, por su apoyo incondicional a pesar de la distancia, su amor infinito  
y por inspirarme a ser mejor cada día.

A mi familia, por ser mi soporte y mi luz en los momentos más oscuros.

A mi compañero de vida, amigo y colega; gracias por todo tu apoyo,  
acompañamiento y paciencia.

A mis “nenas” por hacer mi vida más llevadera.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo recibido.

A la Universidad Autónoma de Baja California por la oportunidad de continuar mi formación profesional.

A mi directora de Tesis *Dra. Ana Laura Martínez* y Co-Directora *Dra. Estefanía Ochoa* por ser mis guías y brindarme su apoyo en todo momento.

A la *Dra. Aracely Serrano* y la *Dra. Asunción Lago*, por las facilidades otorgadas en sus respectivas áreas.

A la *Facultad de Medicina y Psicología de la UABC*, al *Centro de Atención Integral para la Salud* y al *Laboratorio de Composición Corporal* por abrirme sus puertas y permitir desarrollar la presente investigación.

A todas y todos que voluntariamente decidieron participar en el proyecto, estoy infinitamente agradecida.

## RESUMEN

**Antecedentes y objetivo:** El aumento en la prevalencia de obesidad ha propiciado la búsqueda de regímenes dietéticos eficientes como es el caso de la dieta cetogénica (DK); no obstante, se han reportado alteraciones en la composición de la microbiota intestinal al reducir la ingesta de fibra, con resultados contraproducentes. El objetivo de esta investigación fue determinar los cambios en la composición de la microbiota intestinal, química clínica,  $\beta$ -hidroxibutirato y composición corporal posterior a la administración de dieta cetogénica. **Material y métodos:** se realizó un estudio cuasi-experimental, con dos grupos: Grupo 1 (n=10) con obesidad IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> y Grupo 2 (n=10) peso normal con índice de masa corporal (IMC) de 18.5-25 kg/m<sup>2</sup>. Se administró DK isocalórica durante 4 semanas, se realizó un análisis pre y post intervención de la composición corporal, química clínica y la composición de microbiota intestinal con base en la diversidad alfa. **Resultados:** Grupo 1 peso inicial 92.12  $\pm$  7.58 kg, final 89.80  $\pm$  8.47 ( $p=0.044$ ); IMC inicial 33.5 kg/m<sup>2</sup>, final 32.6 kg/m<sup>2</sup> ( $p=0.05$ ), glucosa, CT y HDL sin cambios significativos; TGL inicial 103.6 mg/dL, final 91.7 mg/dL ( $p=0.03$ ); músculo esquelético inicial 25.4 kg final 24.6 kg ( $p=0.002$ ), masa grasa sin cambios significativos. Grupo 2 peso inicial 60.6 kg, final 59.4 kg ( $p=0.17$ ); química clínica y composición corporal sin cambios significativos. Hubo aumento significativo de  $\beta$ -hidroxibutirato sin llegar a niveles reportados de cetosis nutricional. En ambos grupos predominaron 5 *phyla*: Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteriota y Verrumicrobiota. Los principales géneros fueron: *Bacteroides*, *Prevotella* y *Faecalibacterium*. La diversidad alfa, incluyendo el índice de Shannon, diversidad filogenética de Faith y número de especies observadas, no se modificó por el tipo de dieta o peso corporal de acuerdo con modelos lineales mixtos ( $p>0.05$ ). **Conclusión:** la pérdida de peso significativa de los participantes fue a expensas de músculo esquelético, no se encontraron cambios significativos de la microbiota intestinal asociada al peso o tipo de dieta de los participantes.

## TABLA DE CONTENIDO

|                                         |            |
|-----------------------------------------|------------|
| <b>APROBACIÓN DE LA TESIS</b>           | <b>II</b>  |
| <b>DECLARACIÓN INSTITUCIONAL</b>        | <b>I</b>   |
| <b>DEDICATORIA</b>                      | <b>II</b>  |
| <b>AGRADECIMIENTOS</b>                  | <b>III</b> |
| <b>RESUMEN</b>                          | <b>IV</b>  |
| <b>TABLA DE CONTENIDO</b>               | <b>V</b>   |
| <b>ÍNDICE DE TABLAS</b>                 | <b>IX</b>  |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>                | <b>X</b>   |
| <b>ABREVIATURAS</b>                     | <b>XI</b>  |
| <b>GLOSARIO</b>                         | <b>XII</b> |
| <b>CAPÍTULO I</b>                       | <b>13</b>  |
| <b>INTRODUCCIÓN</b>                     | <b>13</b>  |
| A) ANTECEDENTES                         | 14         |
| B) JUSTIFICACIÓN                        | 18         |
| C) HIPÓTESIS                            | 20         |
| D) OBJETIVO GENERAL                     | 20         |
| <i>Objetivos Específicos:</i>           | 21         |
| <b>CAPÍTULO II</b>                      | <b>22</b>  |
| <b>TEORÍA GENERAL</b>                   | <b>22</b>  |
| A) MICROBIOTA GENERALIDADES             | 23         |
| B) MICROBIOTA NORMAL                    | 25         |
| C) OBESIDAD                             | 26         |
| <i>Microbiota intestinal y obesidad</i> | 28         |
| D) DIETA CETOGÉNICA                     | 30         |
| <i>Dieta cetogénica y microbiota</i>    | 32         |
| <i>Adherencia a la dieta</i>            | 33         |
| E) COMPOSICIÓN CORPORAL                 | 34         |

|                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>CAPÍTULO III</b>                                                              | <b>36</b> |
| <b>PARTE EXPERIMENTAL</b>                                                        | <b>36</b> |
| A) DISEÑO DEL ESTUDIO                                                            | 37        |
| B) POBLACIÓN                                                                     | 37        |
| 1. <i>Muestreo</i>                                                               | 37        |
| Criterios de inclusión:                                                          | 37        |
| Criterios de exclusión:                                                          | 37        |
| Criterios de eliminación                                                         | 38        |
| 2. <i>Asignación de grupo</i>                                                    | 38        |
| Grupo 1                                                                          | 38        |
| Grupo 2                                                                          | 38        |
| C) INTERVENCIÓN.                                                                 | 39        |
| 1. <i>Historia clínica y antropometría</i>                                       | 39        |
| 2. <i>Peso, talla, índice de masa corporal (IMC) y circunferencia de cintura</i> | 39        |
| 3. <i>Composición corporal</i>                                                   | 40        |
| 4. <i>Recolección de muestra de sangre venosa y química clínica</i>              | 40        |
| - Glucosa sérica                                                                 | 40        |
| - Colesterol total, C-HDL y C-LDL                                                | 40        |
| HDL Colesterol                                                                   | 41        |
| Triglicéridos                                                                    | 42        |
| $\beta$ -hidroxibutirato                                                         | 43        |
| 5. <i>Recolección de muestra de heces</i>                                        | 43        |
| 6. <i>Diseño de dieta cetogénica isocalórica personalizada</i>                   | 43        |
| Recordatorio de 24 horas                                                         | 43        |
| 7. <i>Extracción de ADN</i>                                                      | 44        |
| 8. <i>Secuenciación de microbiota fecal</i>                                      | 46        |
| Procesamiento de las muestras                                                    | 46        |
| Asignación taxonómica                                                            | 47        |
| Eliminación de secuencias contaminantes                                          | 47        |
| Grupo núcleo                                                                     | 47        |
| Diversidad alfa                                                                  | 48        |
| <b>CAPÍTULO IV</b>                                                               | <b>51</b> |
| <b>RESULTADOS</b>                                                                | <b>51</b> |
| <b>RECLUTAMIENTO Y ASIGNACIÓN DE GRUPO</b>                                       | <b>52</b> |



|                              |                                                                              |           |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| A)                           | DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS                                                      | 52        |
| B)                           | DATOS ANTROPOMÉTRICOS Y COMPOSICIÓN CORPORAL                                 | 53        |
| C)                           | QUÍMICA CLÍNICA                                                              | 55        |
| <b>GRUPO OBESIDAD</b>        |                                                                              | <b>56</b> |
| A)                           | ANTROPOMETRÍA EN GRUPO OBESIDAD POSTERIOR A LA INTERVENCIÓN                  | 56        |
| B)                           | QUÍMICA CLÍNICA EN EL GRUPO OBESIDAD POSTERIOR A LA INTERVENCIÓN.            | 57        |
| C)                           | COMPOSICIÓN CORPORAL POSTERIOR A LA INTERVENCIÓN EN EL GRUPO OBESIDAD.       | 57        |
| <b>GRUPO PESO NORMAL</b>     |                                                                              | <b>58</b> |
| A)                           | ANTROPOMETRÍA EN GRUPO CON PESO NORMAL                                       | 58        |
| B)                           | QUÍMICA CLÍNICA EN EL GRUPO PESO NORMAL POSTERIOR A LA INTERVENCIÓN.         | 59        |
| C)                           | COMPOSICIÓN CORPORAL POSTERIOR A LA INTERVENCIÓN EN EL GRUPO CON PESO NORMAL | 60        |
| <b>BETAHIDROXIBUTIRATO</b>   |                                                                              | <b>60</b> |
| <b>MICROBIOTA INTESTINAL</b> |                                                                              | <b>61</b> |
| A)                           | DESCRIPCIÓN GENERAL DEL SET DE DATOS                                         | 61        |
| B)                           | COMPOSICIÓN TAXONÓMICA DE LAS MUESTRAS                                       | 62        |
|                              | 1) <i>Composición de las muestras con base en el tipo de dieta</i>           | 63        |
|                              | 2) <i>Composición de las muestras con base en el tipo de dieta y peso</i>    | 64        |
| C)                           | DIVERSIDAD ALFA                                                              | 66        |
|                              | 1) <i>Índice de Shannon</i>                                                  | 66        |
|                              | A) Modelo completo                                                           | 66        |
|                              | B) Modelo parcial                                                            | 67        |
|                              | C) Modelo nulo                                                               | 68        |
|                              | 2) <i>Índice de ASVs observados</i>                                          | 69        |
|                              | A) Modelo completo                                                           | 69        |
|                              | B) Modelo nulo                                                               | 70        |
|                              | 3) <i>Índice diversidad filogenética (PD)</i>                                | 71        |
|                              | A) Modelo completo                                                           | 71        |
|                              | B) Modelo parcial                                                            | 72        |
|                              | C) Modelo nulo                                                               | 73        |
| <b>DISCUSIÓN</b>             |                                                                              | <b>75</b> |
| <b>CAPÍTULO V</b>            |                                                                              | <b>79</b> |

|                                                        |            |
|--------------------------------------------------------|------------|
| <b>CONCLUSIONES</b>                                    | <b>79</b>  |
| <b>REFERENCIAS</b>                                     | <b>82</b>  |
| <b>ANEXOS</b>                                          | <b>93</b>  |
| <b>ANEXO 1. RECOLECCIÓN DE DATOS</b>                   | <b>95</b>  |
| <b>ANEXO 2. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO</b>      | <b>97</b>  |
| <b>ANEXO 3. RECOLECCIÓN DATOS COMPOSICIÓN CORPORAL</b> | <b>101</b> |
| <b>ANEXO 4. DIETA HABITUAL PREVIA AL ESTUDIO</b>       | <b>102</b> |
| <b>ANEXO 5. RECORDATORIO DE 24 HORAS</b>               | <b>103</b> |
| <b>ANEXO 6. HISTORIA CLÍNICA PARA PARTICIPANTES</b>    | <b>105</b> |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                       |    |                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Tabla 1. Glucosa sérica. Rangos de referencia</i>  | 40 | <i>Tabla 2. Colesterol total. Rangos de referencia</i>                                | 41 |
| <i>Tabla 3. Colesterol HDL. Rangos de referencia</i>  | 42 | <i>Tabla 4. Triglicéridos. Rango de referencia</i>                                    | 42 |
| <i>Tabla 5. Datos sociodemográficos por grupo</i>     | 53 | <i>Tabla 6. Peso e IMC al ingreso</i>                                                 | 54 |
| <i>Tabla 7. Composición corporal al ingreso</i>       | 55 | <i>Tabla 8. Química clínica al ingreso</i>                                            | 55 |
| <i>Tabla 9. Grupo Obesidad. Antropometría</i>         | 56 | <i>Tabla 10. Química clínica al inicio y final de la intervención. Grupo obesidad</i> | 57 |
| <i>Tabla 11. Composición corporal. Grupo obesidad</i> | 58 | <i>Tabla 12. Antropometría. Grupo peso normal</i>                                     | 59 |
| <i>Tabla 13. Química clínica. Grupo peso normal</i>   | 60 | <i>Tabla 14. Composición corporal. Grupo peso normal</i>                              | 60 |
| <i>Tabla 15 Niveles de Beta-Hidroxibutirato</i>       | 61 | <i>Tabla 16. Operacionalización de variables</i>                                      | 93 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Colonización del tracto digestivo por microbiota intestinal.                    | 23 |
| <b>Figura 2.</b> Factores que promueven o inhiben la formación de ácidos grasos de cadena corta. | 29 |
| <b>Figura 3.</b> Dieta cetogénica: $\geq 70\%$ de grasa, 25% proteína, 5% carbohidrato.          | 31 |
| <b>Figura 4.</b> Niveles de composición corporal. Adaptada de Wang et al; 1992.                  | 34 |

|                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 5.</b> <i>Diseño del proyecto</i>                                                                                            | 49 |
| <b>Figura 6.</b> <i>Reclutamiento de participantes</i>                                                                                 | 51 |
| <b>Figura 7.</b> <i>Descripción general del set de datos de las muestras de estudio.</i>                                               | 60 |
| <b>Figura 8.</b> <i>Perfil microbiano intestinal de las muestras de pacientes antes y después de someterse a una dieta cetogénica.</i> | 61 |
| <b>Figura 9.</b> <i>Composición taxonómica de personas con dieta “normal” y dieta cetogénica.</i>                                      | 62 |
| <b>Figura 10.</b> <i>Composición taxonómica de los participantes de acuerdo a su peso y tipo de dieta.</i>                             | 63 |
| <b>Figura 11.</b> <i>Relación entre la dieta con cambios en la diversidad de la microbiota del intestino (índice de Shannon).</i>      | 66 |
| <b>Figura 12.</b> <i>Relación entre la dieta con cambios en la riqueza de la microbiota del intestino (ASVs observados).</i>           | 68 |
| <b>Figura 13.</b> <i>Relación entre la dieta con cambios en la diversidad filogenética (PD) de la microbiota del intestino.</i>        | 71 |

## ABREVIATURAS

|      |                               |
|------|-------------------------------|
| ADN  | Ácido desoxirribonucleico     |
| AGCC | Ácidos grasos de cadena corta |

|         |                                        |
|---------|----------------------------------------|
| ARNr    | Ácido ribonucleico ribosomal           |
| ASV     | <i>Amplicon sequence variants</i>      |
| C-HDL   | Colesterol de alta densidad            |
| C-LDL   | Colesterol de baja densidad            |
| CT      | Colesterol total                       |
| ENSANUT | Encuesta nacional de salud y nutrición |
| GABA    | Ácido gamma amino butírico             |
| IMC     | Índice de masa corporal                |
| LPS     | Lipopolisacáridos                      |
| OMS     | Organización Mundial de la Salud       |
| TGL     | Triglicéridos                          |

## GLOSARIO

| <b>Término</b>           | <b>Definición</b>                                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| MeSH                     | <i>Medical Subject Headings</i> . El término Encabezados de Temas Médicos también conocido como términos MESH, es un vocabulario terminológico controlado para publicaciones de artículos y libros de ciencia, creado por la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos. |
| Disbiosis                | Alteración cualitativa y cuantitativa en la composición y función de la microbiota intestinal saludable.                                                                                                                                                                        |
| Metaboloma               | Colección dinámica de metabolitos los cuales representan la condición actual celular o cualquier organismo.                                                                                                                                                                     |
| Microbiota               | Conjunto de microorganismos (bacterias, hongos, virus, arqueas, etc.) que existen de forma natural dentro de un nicho biológico particular.                                                                                                                                     |
| Permeabilidad intestinal | Paso anormal de moléculas a través de la pared intestinal                                                                                                                                                                                                                       |
| Prebiótico               | Alimentos no digeribles, principalmente a base de carbohidratos que mejoran la salud humana por estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de bacterias colónicas preexistentes                                                                                       |
| Probiótico               | Suplementos dietéticos a base de microorganismos vivos que afectan positivamente la salud del huésped animal al mejorar el equilibrio de la microbiota intestinal                                                                                                               |
| Simbiótico               | Suplemento dietético que incluye compuesto prebiótico y probiótico                                                                                                                                                                                                              |
| Translocación bacteriana | Paso de bacterias viables desde el tracto gastrointestinal hacia sitios extraintestinales tales como hígado, bazo, ganglios linfáticos.                                                                                                                                         |



## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**



### **a) Antecedentes**

En las últimas décadas, la cantidad de publicaciones acerca de la microbiota ha crecido de forma exponencial, en gran medida debido a la mejora en las técnicas de extracción de ADN y las nuevas tecnologías de secuenciación masiva. Actualmente, sabemos que el cuerpo humano se encuentra completamente colonizado por microorganismos. Este conjunto de microorganismos distribuidos ya sea en cada superficie expuesta a ambientes externos, como piel y mucosas (Gerritsen et al., 2011), o los expuestos al medio interno como es el caso de los microorganismos que habitan el tracto digestivo, (microbiota intestinal) se compone principalmente por bacterias y en menor proporción por arqueas, hongos y virus (Chang & Lin, 2016). Tanto su genoma (microbioma) como los productos de su metabolismo (metaboloma) (Clarke et al., 2014) han sido importante objeto de investigación al estar asociados al desarrollo de enfermedades metabólicas como obesidad (Gomes et al., 2018), diabetes mellitus, síndrome metabólico e hígado graso no alcohólico (Lau & Wong, 2018).

Las funciones de la microbiota intestinal incluyen protección contra patógenos, por mecanismos como resistencia a la colonización y producción de compuestos antimicrobianos (Gerritsen et al., 2011); nutricional, al extraer energía de polisacáridos no absorbibles, síntesis de vitamina B12, vitamina K y ácido fólico; e inmunológica que comprende desarrollo, maduración y mantenimiento del sistema inmune asociado a mucosas. La función de mayor interés es la metabólica, ya que los microorganismos producen numerosos compuestos químicos que son liberados al torrente sanguíneo y actúan en sitios distales, similar a lo que ocurre en órganos endocrinos. La microbiota, incluso, produce neurotransmisores que actúan en el sistema nervioso central, como el caso del ácido gamma amino-butírico (GABA, por sus siglas en inglés) un potente neurotransmisor inhibitorio que se produce por algunas especies de lactobacilos (Barrett et al., 2012).

Por otro lado, la prevalencia de obesidad ( $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) (OMS, 2020) se ha incrementado de forma alarmante a nivel mundial y particularmente en México. Es una enfermedad que se caracteriza por un estado inflamatorio de bajo grado (Cox et al., 2015) y un importante factor de riesgo para el desarrollo de patologías como diabetes tipo 2, hipertensión arterial e hígado graso (Lau & Wong, 2018). Por tal motivo, el uso de estrategias nutricionales con una rápida pérdida de peso se han popularizado recientemente, tal es el caso de la dieta cetogénica en la cual el consumo mínimo de carbohidratos y en mayor proporción grasa y proteínas confiere pérdida de peso acelerada y mayor saciedad (Johnstone et al., 2008) .

Durante años, una de las principales indicaciones para uso de la dieta cetogénica fue para el control de epilepsia refractaria a tratamiento (Xie et al., 2017), por su efecto sobre la síntesis de GABA; en la actualidad, se utiliza con mayor frecuencia en obesidad (Muscogiuri et al., 2019). Sin embargo, se ha reportado un efecto deletéreo sobre la microbiota intestinal y su producción de metabolitos “protectores” como los ácidos grasos libres de cadena corta (Russell et al., 2011), entre ellos acetato, propionato y butirato, productos de la degradación de fibra dietética y algunos almidones (Canfora et al., 2015). Durante la dieta cetogénica la cantidad ingerida de carbohidratos disminuye, por lo tanto, el sustrato para la formación de estos metabolitos es menor, que sumado al estado proinflamatorio de la obesidad conduce a mayor permeabilidad intestinal y disbiosis (Chang & Lin, 2016; Coppola et al., 2021).

Desde la década de los 70's los especialistas recomiendan reducción en el consumo de grasa, debido a su asociación con enfermedades metabólicas como obesidad, diabetes e hígado graso; no obstante, la evidencia actual ha demostrado que existe un efecto deletéreo cuando se consumen carbohidratos altamente procesados. Este efecto se observó en países occidentales donde en la expectativa de vida disminuyó a la par del aumento en el consumo de carbohidratos (Ludwig et al., 2018), por lo que las dietas bajas en carbohidratos, como el caso de la dieta cetogénica, han cobrado relevancia, siendo indicadas principalmente en enfermedades neurológicas como epilepsia (Ludwig et al., 2018; A. Paoli et al., 2013).

En un estudio realizado por Xie et al. (2017) en 14 pacientes pediátricos con epilepsia refractaria y 30 controles, aparentemente sanos, se encontró una diferencia significativa en la diversidad de la microbiota intestinal entre los pacientes y controles sanos, y una mayor diversidad en el grupo control, después de una semana con dieta cetogénica. Sin embargo, el objetivo principal del estudio fue el efecto terapéutico de la dieta sobre la epilepsia. Por otro lado, Zhang et al. (2018) evaluó los cambios en la diversidad de la microbiota intestinal en 20 pacientes con epilepsia refractaria, posterior a 6 meses de dieta cetogénica con una relación 4:1 (grasa:proteína), 70% grasa, al menos un gramo de proteína por kilogramo de peso, y observaron que los pacientes no presentaron disminución del peso corporal pero sí se evidenció una reducción de la riqueza y diversidad alfa posterior a la dieta cetogénica en este grupo de pacientes. En otro estudio realizado en 12 pacientes pediátricos con epilepsia resistente a terapia, se administró dieta cetogénica durante 3 meses pero no encontraron cambios significativos en la diversidad de la microbiota intestinal (Lindfeldt et al., 2019).

Estudios experimentales realizados en roedores sanos, en los que se les administró una dieta cetogénica (grasa 75%, proteína 8.6%, fibra 4.8%, 3.2% carbohidratos) a 9 roedores y se usaron 10 controles. Ambos grupos recibieron la misma cantidad en gramos totales, cada grupo con diferente proporción de

macronutrientes. Los resultados mostraron pérdida de peso y menor nivel de glucosa sérica, en el grupo de dieta cetogénica, a pesar de que, fueron roedores sanos. En el análisis de la microbiota intestinal se determinó una disminución significativa de la diversidad alfa, con aumento de especies benéficas como *Lactobacillus* y *Akkermansia muciniphila*, esta última relacionada con mejoría en la sensibilidad a la insulina. De igual importancia, se encontró una disminución de *Desulfovibrio* y *Turicibacter* géneros de microbiota proinflamatoria asociados con enfermedad inflamatoria intestinal (Ma et al., 2018).

Un estudio piloto, en 33 pacientes obesos, utilizó un programa comercial de pérdida de peso, con modificación de estilo de vida y conducta. Este estudio consistió en una primera fase de dieta cetogénica muy baja en carbohidratos (2 meses), incluyendo un alimento estandarizado de proteína con alto valor biológico (600-800 kcal/día), seguido de una segunda fase (2 meses) con dieta baja en calorías (800-1500 kcal/día) y uso de simbióticos. Se evaluó la composición corporal y los cambios en la microbiota intestinal encontrándose un aumento en la diversidad de la microbiota intestinal en la primera etapa, lo cual se atribuyó directamente a la importante pérdida de peso en los pacientes más que al tipo de dieta en sí. En la segunda etapa, con dieta baja en calorías y administración de simbióticos, las diferencias en la microbiota no fueron significativas (Gutiérrez-Repiso et al., 2019). Sin embargo, al ser un estudio piloto se requiere de mayor investigación en pacientes con obesidad.

Por otra parte, en un estudio reciente, no aleatorizado, donde se evaluaron tres estrategias nutricionales para el control de la obesidad: dieta mediterránea hipocalórica (21 pacientes), dieta cetogénica muy baja en calorías (18 pacientes) y cirugía bariátrica con manga gástrica (22 pacientes) y cuyo objetivo fue identificar un patrón en la microbiota intestinal posterior a la pérdida de peso, encontraron que cada régimen dietético tenía un patrón distinto. Además, y aunque no fue el objetivo del estudio, observaron un aumento de la diversidad

alfa posterior a la estrategia nutricional en los pacientes con dieta mediterránea hipocalórica (Gutiérrez-Repiso et al., 2021).

En un estudio realizado sobre dieta cetogénica en personas con peso adecuado, sin restricción calórica, se evaluó el impacto de la misma en un periodo de 6 semanas sobre la actividad física, composición corporal y parámetros bioquímicos. Un total de 42 pacientes completaron el estudio, y a pesar de mantener el mismo aporte calórico, se identificó una reducción estadísticamente significativa en el peso corporal. En el perfil de lípidos los triglicéridos y C-HDL se mantuvieron sin cambios significativos, sin embargo si hubo aumento significativo de C-LDL. También se observó que la actividad física no tuvo un impacto significativo. En dicho estudio no se evaluó el impacto de la dieta sobre la microbiota intestinal (Urbain et al., 2017).

En otro estudio aleatorizado, cruzado, con periodo de lavado de 15 semanas, se evaluó el efecto de una dieta cetogénica en mujeres con peso normal comparada con su dieta habitual. El objetivo fue evaluar el efecto sobre el perfil lipídico y riesgo cardiovascular. Completaron el estudio 17 participantes de 24 que iniciaron el estudio y se encontró un aumento significativo de C-LDL y apolipoproteína B100. En éste estudio tampoco se evaluó el impacto de la dieta sobre la microbiota intestinal (Burén et al., 2021).

## **b) Justificación**

La obesidad es uno de los problemas metabólicos cuya prevalencia continúa en aumento alrededor del mundo (Kelly et al., 2008) (Organización Mundial de la Salud, 2020). Entre los factores de riesgo principales para su desarrollo encontramos un estilo de vida sedentario y un tipo de dieta con alta ingesta de alimentos procesados, ricos en grasas saturadas de origen animal y azúcar refinado (Haslam & James, 2005). Dentro de las estrategias para el manejo de obesidad destacan las intervenciones nutricionales, que son la primera línea de tratamiento, tales como dietas basadas en restricción calórica caracterizadas por una menor ingesta de alimentos que promueve la pérdida de peso, sin embargo esta dieta se asocia con poco apego por parte de los pacientes. Cabe mencionar que no existe un consenso sobre cuál es el protocolo más efectivo a corto y largo plazo (Pagès-Puigdemont & Valverde-Merino, 2018). La dieta cetogénica ha tenido un rol terapéutico en epilepsia refractaria y las enfermedades neurodegenerativas (Xie et al., 2017). En años recientes, este tipo de dieta se ha empleado también para tratar la obesidad, debido al bajo consumo de carbohidratos y a la sensación de saciedad, secundaria a la alta ingesta de lípidos y proteínas (Muscogiuri et al., 2019); sin embargo, los estudios realizados evaluando cambios en la microbiota intestinal son todavía pocos (Gutiérrez-Repiso et al., 2019) y la mayoría de ellos han sido realizados en pacientes con enfermedades subyacentes obteniéndose resultados heterogéneos (Xie et al., 2017)(Zhang et al., 2018). Algunos de estos resultados han mostrado disminución de la diversidad en la microbiota, lo que, aunado a la disbiosis causada por la obesidad, pudiera tener consecuencias negativas en estos pacientes, como el aumento de permeabilidad intestinal, la translocación bacteriana que desencadena mayor respuesta inflamatoria, la exacerbación de disbiosis y la producción de metabolitos dañinos (como las nitrosaminas) asociados a enfermedades cardiovasculares y metabólicas. Por todo esto, se requiere mayor evidencia que permita a los profesionales de la salud tomar una mejor decisión en qué tipo de población recomendar este régimen dietético (Rohr et al., 2020).

El uso cada vez más frecuente de la dieta cetogénica en todo tipo de población, principalmente jóvenes sin obesidad y, en la mayoría de los casos, sin supervisión por un profesional en nutrición, crea la necesidad de aumentar la investigación y evaluar el efecto que dicha estrategia nutricional tiene en diferentes poblaciones. Utilizando métodos mas eficientes de extracción de ADN a partir de heces fecales y las nuevas técnicas de secuenciación, se facilita la caracterización de la microbiota intestinal previa y posterior a la estrategia nutricional, permitiendo determinar los cambios que la dieta provocaría.

El diseño de una dieta cetogénica personalizada y basada en el requerimiento calórico de cada participante, permitirá mayor apego a la misma. Teniendo en cuenta que el objetivo de la investigación no es la pérdida de peso, es importante realizarla en población con peso normal, ya que se esperaría que esta población tuviera eubiosis, pues la dieta cetogénica pudiera ser un factor de riesgo para desencadenar disbiosis. Por otro lado, es importante aumentar la investigación en población con obesidad, ya que, hasta la fecha, los resultados de los pocos estudios realizados han sido discrepantes, por lo que se requiere mayor información que sustente su uso en este tipo de pacientes, o bien, que los datos sean contundentes para evitar su recomendación.

### **c) Hipótesis**

Después de un mes de consumo de dieta cetogénica, se presentará disminución de diversidad de especies bacterianas intestinales y variación en la composición corporal, valores en glucosa sérica y perfil lipídico, en pacientes con y sin obesidad.

### **d) Objetivo General**

- Evaluar el efecto de una dieta cetogénica isocalórica administrada durante 4 semanas, sobre la composición corporal, la composición de la microbiota intestinal, la concentración de glucosa y el perfil de lípidos en sangre, en pacientes con obesidad y sin obesidad.

### **Objetivos Específicos:**

En dos grupos de voluntarios uno con IMC de  $18.5 \text{ kg/m}^2$  –  $25 \text{ kg/m}^2$  y otro con  $\text{IMC} > 30 \text{ kg/m}^2$ .

- Cuantificar la concentración de beta-hidroxibutirato sérico a través de un ensayo de ELISA, previa y posterior a la administración de dieta cetogénica isocalórica para determinar la generación de cuerpos cetónicos como producto de la estrategia nutricional.

- Determinar los cambios en la composición de la microbiota intestinal después de 4 semanas de dieta cetogénica isocalórica, para observar los cambios de diversidad de la microbiota intestinal mediante la extracción de ADN bacteriano de muestra de heces, seguido de secuenciación ARNr 16S, antes y después de la dieta cetogénica.

- Realizar mediciones antropométricas clínicas y por bioimpedancia (SECA), antes y después a la administración de la dieta cetogénica isocalórica durante cuatro semanas para determinar la composición corporal.

- Analizar los cambios en glucosa sérica y perfil lipídico incluyendo colesterol total, triglicéridos, C-HDL, C-LDL, para determinar los cambios en la bioquímica clínica de los pacientes antes y después de la intervención con dieta cetogénica isocalórica durante cuatro semanas.



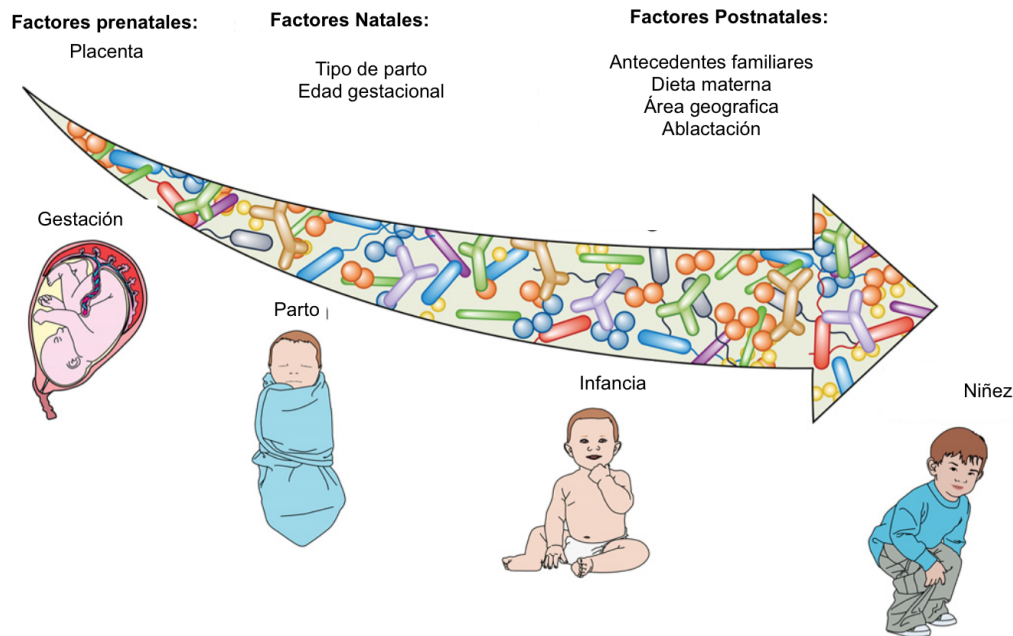
## **CAPÍTULO II**

### **TEORÍA GENERAL**

### **a) Microbiota generalidades**

El estudio de la microbiota en términos generales es una de las áreas de la Biología que ha tenido un crecimiento exponencial en los últimos años, siendo un tema de interés para diversas disciplinas. Todo ello ha sido posible gracias a la mejora en las técnicas de secuenciación y extracción de ADN. Para el estudio del tema, es necesario definir algunos términos como microbiota, microbioma y metaboloma. El microbioma se refiere a la población de microorganismos vivos en un nicho en particular, en nuestro caso a nivel intestinal; el microbioma se refiere al genoma completo de la microbiota y el metaboloma consiste en el conjunto de metabolitos que pueden ser sintetizados o incorporados, en este caso, por la microbiota (Lavelle & Hill, 2019).

El rol de la microbiota intestinal en el huésped es esencial y ha sido demostrado en diversos estudios en animales no colonizados, es decir, libres de microbiota, en comparación con animales colonizados, donde las principales funciones de la microbiota son su contribución a la digestión. En estos estudios se ha observado que los animales libres de gérmenes requerían un mayor aporte calórico, haciendo evidente que la microbiota extrae micro y macronutrientes de la dieta que las células intestinales no tienen la capacidad de absorber. Se han documentado además cambios en la fisiología, como alteración en la motilidad intestinal, observándose que se encontraba mayormente disminuida en los animales no colonizados, además se han descrito cambios anatómicos que incluyen mucosa y capas musculares más delgadas, menor vascularidad y, lo más relevante, un sistema inmune inmaduro en los animales libres de gérmenes, lo cual los hace susceptibles a contraer un mayor número de enfermedades (Bä et al., 2007).



**Figura 1.** Colonización del tracto digestivo por microbiota intestinal.

Adaptada de Milani et al; The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota (Christian Milani, Sabrina Duranti, Francesca Bottacini et al., 2017)

La colonización del intestino humano por la microbiota inicia posterior al nacimiento, interviniendo diversos factores que contribuyen a la formación de un microbioma específico para cada individuo y dinámico a lo largo de la vida. Entre estos factores se encuentran los perinatales, como el tipo de parto, que contribuye a la composición temprana de la microbiota. Si el parto es por vía vaginal se tiene mayor contacto con la microbiota de la madre, tanto vaginal como fecal, en comparación con el parto por cesárea en los que la colonización es principalmente por la microbiota de la piel de la madre e incluso hospitalaria. La edad gestacional al nacimiento se ha considerado durante años como el principal determinante para desarrollo de microbiota en la edad adulta, sin embargo, se ha descartado, aunque sin dejar de ser un factor relevante, pues la mayoría de los neonatos prematuros poseen una microbiota compuesta de bacterias

predominantemente gram positivas, y presentan riesgo de desarrollar complicaciones severas como colitis necrosante. El tipo de alimentación es de suma importancia en la colonización temprana del intestino, la alimentación con leche materna provee una mezcla de nutrientes, agentes pro y antimicrobianos esenciales en la función gastrointestinal; por otro lado, los lactantes que son expuestos a las fórmulas lácteas tienen una composición totalmente distinta. La ablactación es el factor más importante para el cambio de microbiota que se asemeja a la microbiota de adultos, con un cambio total a los 3 años de edad (Figura 1) (Lavelle & Hill, 2019; Yatsunencko et al., 2012).

#### **b) Microbiota normal**

Es difícil una definición de “microbiota intestinal normal” puesto que la microbiota es diferente en cada ser humano y es altamente dinámica, presentando una variabilidad que puede ser inherente al huésped o dependiente de factores ambientales. Con las nuevas técnicas de secuenciación de ácido desoxirribonucleico ribosomal (ADNr) y el enriquecimiento de las bases de datos de microbiomas se ha producido un gran avance, pudiéndose caracterizar la microbiota en un gran número de sujetos sanos y evidenciando las diferencias entre ellos. Actualmente se reconoce que la riqueza de especies y su diversidad son las características principales en sujetos sanos. Ambas particularidades se determinan mediante índices de biodiversidad alfa como el índice de Shannon que evalúa la riqueza y abundancia de una especie en un nicho ecológico determinado y el índice de Chao que evalúa la representatividad de las especies. (del Campo-Moreno et al., 2018; Flores, 2012). En adultos la cantidad de bacterias oscila entre  $10^{10}$  y  $10^{11}$  por gramo de heces, y se pueden encontrar entre 500 y 1000 especies, dominando los *phyla Bacteroidetes* cerca de 25% y *Firmicutes* alrededor de 60%. En menor proporción se encuentran *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Fusobacteria*, *Cyanobacteria* y *Spirochaetes*. La microbiota cambia significativamente de acuerdo a la región

geográfica, y ya ha sido demostrado que la población que consume mayor cantidad de proteínas y alimentos industrializados presenta una disminución de la diversidad y diferentes especies (Yatsunenko et al., 2012). En pacientes obesos, la proporción *Firmicutes-Bacteroidetes* se ha reportado alterada en algunos estudios, encontrando una alta abundancia de *Firmicutes*. Diferentes especies de *Bacteroidetes* se encargan de la digestión de almidones y fibras para la producción de energía, por lo tanto, los hábitos alimenticios de pacientes obesos son en gran medida la causa de la disbiosis. En estudios realizados en roedores se encontró que la microbiota con fenotipo de obesidad fue transmitida con facilidad entre los roedores que vivían juntos. Además se vio que al trasplantar microbiota fecal de roedores obesos a roedores con peso normal estos últimos desarrollaban obesidad y que la misma cantidad de alimentos en ambas cohortes provocaban obesidad en el grupo de roedores con fenotipo de obesidad, concluyendo que el tipo de microbiota tiene la capacidad de extraer y proveer mayor energía al huésped en comparación con los que tienen microbiota normal (Torres-Fuentes et al., 2017).

### **c) Obesidad**

La prevalencia de sobrepeso y obesidad ha crecido de forma alarmante en las últimas décadas, frecuentemente subestimada, tanto por profesionales de la salud, como de las mismas personas que la padecen. Las causas de la alta prevalencia de obesidad son diversas y van desde las políticas de salud en cada país, con programas ineficientes de prevención y tratamiento, falta de recursos humanos e insumos, al poco interés de los pacientes, por desconocimiento de que es un problema médico, así como por la aparición tardía de las complicaciones o bien, la falta de reconocimiento oportuno por parte del personal médico (Haslam & James, 2005). Estudios epidemiológicos han citado al sobrepeso y a la obesidad como factores de riesgo para el desarrollo de diabetes, hipertensión arterial, enfermedades cardiovasculares, cáncer y muerte

prematura, convirtiéndose en un problema de salud pública a nivel internacional, por lo que el mantenimiento de un peso saludable es el principal objetivo en la prevención (Guh et al., 2009).

El beneficio de la actividad física vigorosa principalmente en la salud cardiovascular es conocido desde la década de los 50 (Halle, 1953). Posteriormente se han descrito múltiples beneficios del ejercicio físico desde psicológicos a físicos que contribuyen principalmente al mantenimiento del peso corporal, sin embargo, para pérdida de peso el beneficio es modesto 5-10%, convirtiendo a la dieta en el principal factor, dato conocido desde hace varias décadas y el cual ha permanecido sin cambio (Erlichman et al., 2002).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define sobrepeso y obesidad como la acumulación excesiva o anormal de grasa en el cuerpo, secundario al desequilibrio entre las calorías ingeridas y su gasto. Dentro de los indicadores para definir el sobrepeso, el índice de masa corporal (IMC) es el más utilizado y se calcula al dividir el peso de una persona (expresado en kilogramos) por la talla al cuadrado (expresada en metros),  $\text{kg/m}^2$ . En adultos de acuerdo con la OMS, la obesidad corresponde a un  $\text{IMC} > 30 \text{ kg/m}^2$ , el sobrepeso a un  $\text{IMC} 25\text{-}30 \text{ kg/m}^2$  y el IMC normal  $< 25 \text{ kg/m}^2$ . La prevalencia de obesidad en 2016 fue de 13% a nivel internacional, para población adulta mayor de 18 años (Organización Mundial de la Salud, 2020).

En un estudio realizado en el año 2005 con muestras de 106 países y una representación de 88% de la población global, se encontró una prevalencia de sobrepeso en el 23.2% y obesidad en el 9.8% (396 millones) de la población adulta y se proyectó que en el 2030 habría 573 millones de obesos y de no contarse con programas de salud pública adecuados la cifra podría superar el billón de casos (Kelly et al., 2008)

En México, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de 2018 (ENSANUT), la prevalencia en adultos de 20 años y más con sobrepeso y obesidad es de 75.2% (39.1% sobrepeso y 36.1% obesidad), aumentando con

respecto a lo reportado en 2012 en un 71.3 % (Instituto Nacional de Salud Pública, 2019).

### **Microbiota intestinal y obesidad**

La relación entre microbiota intestinal y obesidad ha sido descrita en diversos estudios experimentales realizados en roedores libres de gérmenes, los cuales se colonizaron con microbiota proveniente de roedores obesos y otro grupo con microbiota de roedores con peso normal. Al alimentar de la misma manera a ambos grupos, los colonizados con microbiota proveniente de roedores con obesidad, desarrollaron obesidad, destacando la capacidad de extracción de energía por parte de la microbiota, independientemente de la dieta (Bä et al., 2007).

Los microorganismos y su función son objeto de estudio en diferentes disciplinas, sin embargo, al estar estrechamente ligados con la alimentación y debido al alto impacto en salud pública, tanto la obesidad como síndrome metabólico, son prioridad en materia de investigación. Los metabolitos que producen a partir de alimentos pueden ser benéficos o dañinos, dependiendo del tipo de alimentación del huésped (Turnbaugh et al., 2006).

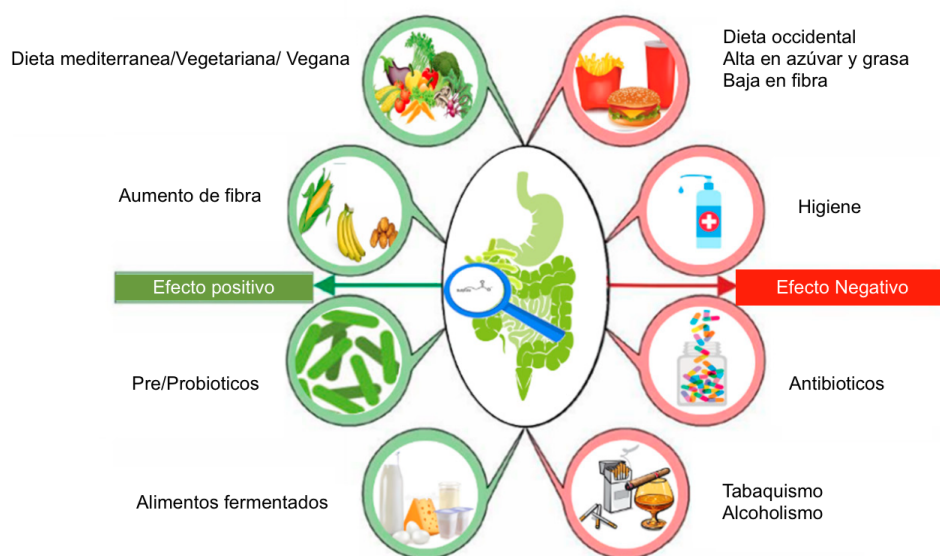
Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como el butirato, propionato y acetato, son resultado de la fermentación de carbohidratos no digeribles, como la fibra dietética y almidones, que al permanecer en el intestino son accesibles para la microbiota y representan la mayor fuente de carbono proveniente de la dieta (Figura 2). La relación entre la ingesta dietética, y la diversidad de la microbiota, entender su función y significancia en la salud humana es un área de investigación muy activa en la actualidad. Las funciones atribuidas a los AGCC oscilan desde locales hasta sistémicas. Localmente el butirato es un sustrato para el mantenimiento de la integridad de la mucosa colónica y una fuente importante de energía utilizada por los colonocitos; otra función atribuida es la integridad de

las uniones intercelulares estrechas en la barrera intestinal, junto con las proteínas de unión, lo cual representa una importante vía de comunicación entre el lumen intestinal y el sistema portal sistémico. El incremento de la permeabilidad intestinal, cuando estas barreras se pierden, permite la translocación bacteriana y/o componentes de la pared celular de bacterias como lipopolisacáridos (LPS), desencadenando la cascada inflamatoria con activación de macrófagos y producción de citocinas inflamatorias e infiltración por neutrófilos, situación conocida como inflamación de bajo grado que ha sido asociada a obesidad y resistencia a la insulina, con sus complicaciones a largo plazo como son la Diabetes Mellitus y el Síndrome Metabólico. (Morrison & Preston, 2016, Antonio Paoli et al., 2019).

La cuantificación de AGCC en heces humanas no han mostrado resultados concluyentes ya que la cuantificación por esta vía no es apropiada para estimar la producción en el colon proximal. Por lo tanto, se sugiere el estudio de la microbiota intestinal. La producción de propionato a pesar de estar distribuida en un gran número de *phyla* es dominada por pocos géneros bacterianos. Dentro de las especies más reconocidas se encuentra *Akkermansia muciniphila* identificada como un productor clave de propionato y mucina degradadora de microorganismos. Por otro lado, pocas especies han sido identificadas como productoras de butirato y se encuentra dominada por *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium halii* y *R. bromii*. En patologías autoinmunes, como artritis psoriásica y enfermedad inflamatoria intestinal, se ha identificado disminución de la diversidad bacteriana, menor abundancia de *F. prausnitzii* y pérdida de la producción de butirato con daño al epitelio intestinal (De Vadder et al., 2014). Este fenómeno de pérdida de diversidad microbiana se conoce como disbiosis. Existen factores de riesgo conocidos para el desarrollo de disbiosis como son el uso de antibióticos, los trastornos metabólicos y la obesidad. No obstante, la dieta occidental alta en carbohidratos y grasas, con baja cantidad de fibra, se ha asociado también con una reducción en la producción de AGCC, producto del crecimiento bacteriano



relacionado a inflamación crónica entre los que destacarían géneros anaerobios como *Escherichia*, *Proteus* y *Klebsiella* (Rinninella et al., 2019). De forma similar, en países desarrollados, las tasas de obesidad, enfermedades cardiovasculares y cáncer son mayores que en países en desarrollo, lo cual se ha asociado con el tipo de dieta (Dao & Clément, 2018).



**Figura 2.** Factores que promueven o inhiben la formación de ácidos grasos de cadena corta.

Adaptada de Coppola et al; The Protective Role of Butyrate against Obesity and Obesity-Related Diseases. (Coppola et al., 2021)

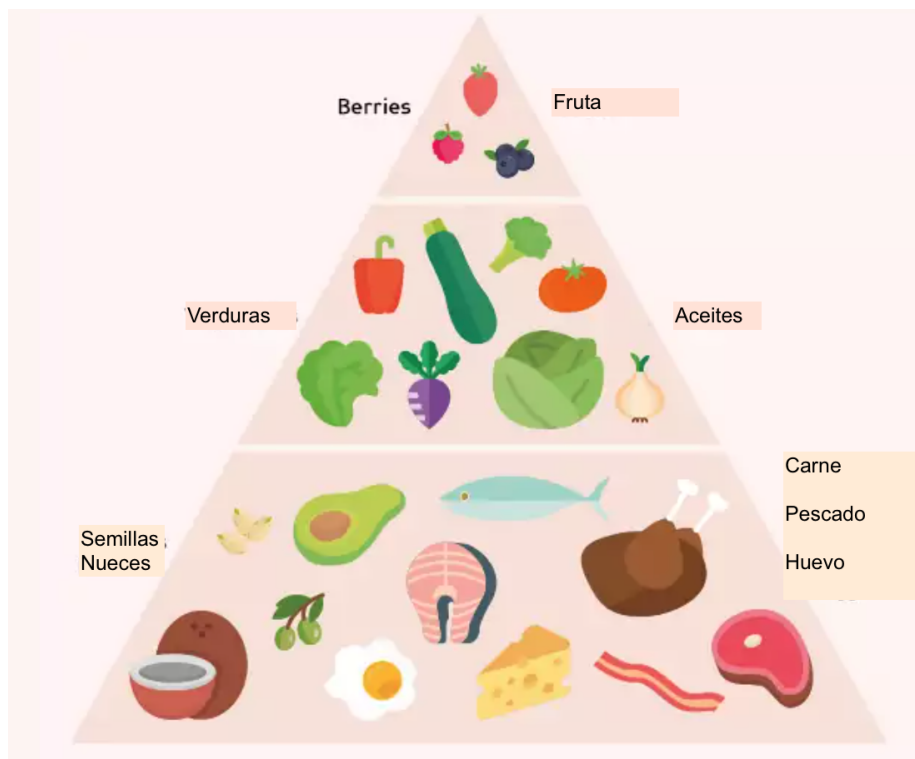
#### d) Dieta cetogénica

La dieta cetogénica se ha utilizado principalmente para el control y tratamiento de la epilepsia refractaria. El mecanismo por el cual funciona se debe a la estimulación del crecimiento de bacterias con capacidad de producción de compuestos neuroactivos como el ácido gamma-amino-butírico (GABA), el principal neurotransmisor inhibitorio en mamíferos. Asimismo, la exclusión de esta dieta de alimentos como la fibra, puede impactar de forma negativa a la microbiota intestinal. Algunos estudios realizados en pacientes con epilepsia y

uso de dieta cetogénica han mostrado una disminución significativa en la diversidad microbiana, similar a lo que ocurre en enfermedad inflamatoria intestinal o enfermedades metabólicas como diabetes (Antonio Paoli et al., 2019).

La característica que define la dieta cetogénica es la reducción en el consumo de carbohidratos, de una ingesta promedio de 50% de las calorías totales, hasta un 5% de las calorías ingeridas y como principal macronutriente grasa  $\geq 70\%$  (Figura 3). Al ser reemplazados los carbohidratos por lípidos, los picos posprandiales de glucosa e insulina sérica disminuyen, incrementa la concentración de glucagón, permitiendo la obtención de energía mediante oxidación de las grasas. Ese cambio metabólico se asocia a menor estrés oxidativo y respuesta inflamatoria por la dieta, reducción de la resistencia a la insulina y mejoría del síndrome metabólico. Este fenómeno es conocido como cetosis nutricional, en la que los cuerpos cetónicos producto de estrés oxidativo aumentan sus concentraciones séricas, en el caso de  $\beta$ -hidroxibutirato los niveles séricos en condiciones normales se encuentra por debajo de 0.1mM y en cetosis nutricional aumenta de 0.5 mM a 5 mM; lo cual difiere con la cetoacidosis diabética cuya concentración se encuentra por arriba de 10mM (Ludwig et al., 2018). Los niveles de cetonas en general durante la cetosis nutricional oscilan entre 7-8 mM (A. Paoli et al., 2013).

Al mismo tiempo, se ha investigado sobre el efecto de la dieta cetogénica en los niveles séricos de lípidos, puesto que al aumentar la proporción ingerida de grasa pudiera esperarse un aumento de estos. Sin embargo, algunos estudios han encontrado aumento no significativo de C-LDL y por otro lado, los niveles de colesterol y triglicéridos han permanecido estables (Urbain et al., 2017, Burén et al., 2021).



**Figura 3.** Dieta cetogénica:  $\geq 70\%$  de grasa, 25% proteína, 5% carbohidrato.

Adaptada de <https://www.biocyte.com/en/content/185-keto-diet>

### Dieta cetogénica y microbiota

Las alteraciones que sufre la microbiota intestinal posterior a la dieta cetogénica y su investigación ha crecido a la par que los nuevos métodos en la caracterización de la microbiota. Cabe señalar que la mayoría de las investigaciones se centran en pacientes con enfermedades neurológicas, donde el régimen dietético tiene una indicación clara. En dicha población algunas investigaciones muestran que hay una disminución de la diversidad bacteriana secundario a la disminución en la ingesta de carbohidratos, con menor número de bacterias que producen energía a partir de los carbohidratos accesibles a microbiota. Sin embargo, metabólicamente se ha registrado la disminución de glucosa sérica y niveles de insulina. Las especies bacterianas encontradas en

mayor número son *Akkermansia muciniphila* y *Lactobacillus*, ambas productores de AGCC, lo que supondría un efecto benéfico para el organismo, no obstante, los resultados no han sido consistentes y existe una carencia de estudios aleatorizados con una muestra representativa (Reddel et al., 2019).

Más allá de las enfermedades neurológicas, el interés sobre la dieta cetogénica en el contexto de sobrepeso y obesidad ha crecido de forma importante, debido a que provoca una súbita pérdida de peso al disminuir la ingesta de carbohidratos. Los resultados de muchas dietas en el control de peso de forma crónica no son alentadores debido a la baja adherencia, sin embargo, esta estrategia nutricional se ha llevado a cabo con personas con peso adecuado e incluso en atletas que desean mantener un peso saludable. Los estudios en pacientes con peso adecuado y dieta cetogénica se han enfocado en las alteraciones metabólicas y la mayoría no han incluido el estudio de la microbiota intestinal. Por lo que, se desconoce si el uso de dieta cetogénica en población sana pudiera desarrollar disbiosis.

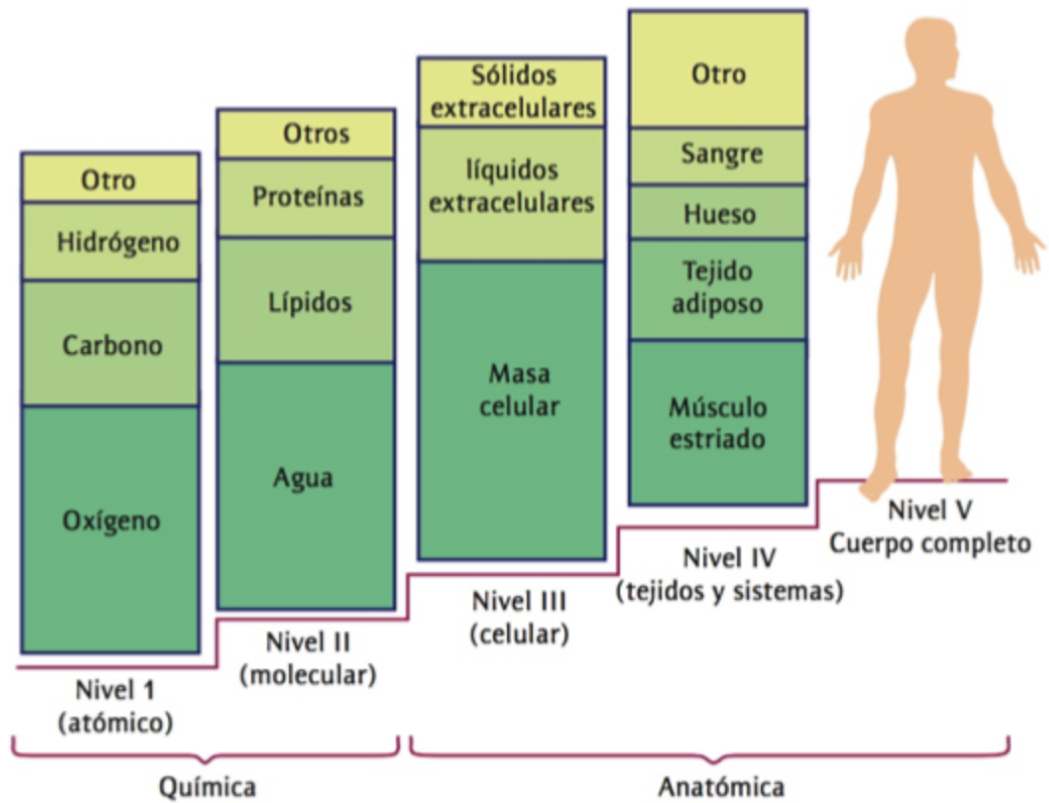
### **Adherencia a la dieta**

La principal estrategia para el manejo de la obesidad es dietética pero la escasa motivación y discreta pérdida de peso conducen a una falta de apego. En general una adherencia al régimen dietético se considera satisfactoria en 80% (Haslam & James, 2005). Para la valoración de la adherencia, tanto a tratamiento médico como a régimen dietético, existen varios métodos de acuerdo con un artículo de revisión reciente de Pagès-Puigdemont et al. (2018). Estos métodos los podemos dividir en directos, en el caso de los fármacos, midiendo los niveles séricos y en indirectos, basados en entrevistas y cuestionarios. De los métodos indirectos, los autoadministrados han demostrado ser una herramienta adecuada (Pagès-Puigdemont & Valverde-Merino, 2018), por ser sencilla, fácil de aplicar y barata y en la mayoría de los casos, los cuestionarios son diseñados por los mismos investigadores (Martínez et al., 2016). Existen diversos estudios que los

han validado y apoyan su uso, los cuales se han realizado en población con alimentación controlada por el investigador y por la noche se les pide a los participantes que llenen un diario de alimentación que incluya los alimentos y bebidas ingeridos, así como porciones consumidas. Los resultados de este tipo de estudios han sido satisfactorios y se recomienda mínimo un registro de tres días a la semana para valorar la asociación entre lo consumido y lo reportado, considerándose adherencia adecuada si se cumple un 80% de apego. Cabe señalar que dichos diarios tienen una correlación adecuada con las entrevistas telefónicas realizadas por el equipo investigador, aunque no son perfectos pues dependen del participante, sin embargo se consideran una herramienta útil por su factibilidad y bajo costo (Kirkpatrick et al., 2014; Rosa M. Ortega et al., 2015).

#### **e) Composición corporal**

Más allá de la antropometría y del cálculo de IMC, la evaluación de la composición corporal mediante técnicas validadas como impedancia bioeléctrica y pletismografía con desplazamiento de aire han cobrado importancia debido a su mayor exactitud, ya que algunos pacientes con un IMC similar presentan distinto porcentaje de tejido graso. Ambas son técnicas validadas en población mexicana y tienen la ventaja de ser no invasivas, son fáciles de realizar, rápidas y sin exposición a radiación (Macias et al., 2007). La impedancia bioeléctrica consiste en administrar una corriente eléctrica de muy baja intensidad, mediante electrodos táctiles tetrapolares. El alto contenido de agua en músculo, hueso y vasos sanguíneos permite la conducción eléctrica. Por otro lado, la baja conductividad eléctrica en tejido graso permite la estimación de masa grasa y masa libre de grasa, como el músculo esquelético. El sistema cuenta con un software que realiza la estimación del volumen corporal total y la proporción de agua corporal, tejido graso y tejido libre de grasa (Hailee L. Wingfield et al., 2014).



**Figura 4.** Niveles de composición corporal. Adaptada de Wang et al; 1992.

## **CAPÍTULO III**

### **PARTE EXPERIMENTAL**

### **a) Diseño del Estudio**

Cuasiexperimental

### **b) Población**

Se reclutaron voluntarios invitados mediante redes sociales y pacientes que acudieron al Centro de Atención Integral en Salud (CAIS) en el periodo comprendido entre agosto de 2021 y mayo de 2022, dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma de Baja California Campus Tijuana.

#### **1. Muestreo**

Se realizó un muestreo no probabilístico, por conveniencia, con un total de 20 participantes, distribuidos en dos grupos de acuerdo con el índice de masa corporal. Todos los participantes cumplieron los siguientes criterios:

#### ***Criterios de inclusión:***

Edad: 18-60 años

Índice de masa corporal 18.5 a 25 kg/m<sup>2</sup> y >30 kg/m<sup>2</sup>

Los participantes no presentaron ninguna condición congénita o adquirida que por su naturaleza alterase las características de la microbiota intestinal, como enfermedades crónico-degenerativas o el uso de antibióticos o probióticos, descritas en el ANEXO 1.

#### ***Criterios de exclusión:***

Personas que se encontraron bajo un régimen alimenticio específico como dieta libre de gluten, vegana, vegetariana, ayuno intermitente.

Glucosa mayor de 126 mg/dL detectada en estudios basales

Uso de diuréticos

Colesterol sérico total >220mg/dL detectado en estudios basales.



### ***Criterios de eliminación***

Pacientes con uso de antibióticos durante el estudio.

Presencia de diarrea aguda, definida como tres o más episodios de evacuaciones disminuidas en consistencia, bristol 7, durante el estudio.

Falta de adherencia a la dieta, evaluada mediante recordatorio de 24 horas, con base en llamadas telefónicas realizadas dos días entre semana y una en fin de semana, de manera aleatoria. Con los datos obtenidos se calcularon equivalentes de carbohidratos y se eliminaron los participantes que ingirieron una proporción >20% de carbohidratos.

Los voluntarios que cumplieron los criterios de inclusión recibieron información completa sobre el estudio y otorgaron su consentimiento por escrito, de acuerdo con los lineamientos del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina y Psicología de la Universidad Autónoma de Baja California (ANEXO 2).

## **2. Asignación de grupo**

Los participantes que aceptaron participar se asignaron a uno de los dos grupos de acuerdo con el Índice de Masa Corporal (IMC).

### ***Grupo 1***

Pacientes con obesidad de acuerdo con la definición de la OMS (Organización Mundial de la Salud, 2020)  $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$

### ***Grupo 2***

Voluntarios sin obesidad con  $IMC 18.5 - 25 \text{ kg/m}^2$

### **c) Intervención.**

#### **1. Historia clínica y antropometría**

Se realizó una historia clínica a cada uno de los participantes (ANEXO 6), además los voluntarios llenaron un informe sobre el promedio mensual de consumo de carbohidratos, grasas y proteínas (ANEXO 4).

#### **2. Peso, talla, índice de masa corporal (IMC) y circunferencia de cintura**

La medición se realizó de acuerdo con estándares internacionales. Para el peso corporal se utilizó una báscula portátil electrónica marca Tanita, el participante portó la menor cantidad de ropa posible y sin zapatos, se le pidió que subiera a la báscula colocando los pies paralelos en el centro, de frente al examinador. El participante se mantuvo erguido, con la vista hacia el frente, sin moverse y los brazos con caída natural hacia los lados.

La talla se midió usando un estadímetro portátil marca Seca. El participante se colocó de pie con los talones juntos y los pies formando un ángulo de 45 grados. Los talones, glúteos y región occipital estuvieron en contacto con la superficie vertical del estadímetro, metiendo la cabeza en el plano de Frankfort (Madden & Smith, 2016).

El cálculo de índice de masa corporal (IMC) se realizó de acuerdo con la siguiente fórmula  $IMC = \text{peso expresado en kilogramos} / \text{talla expresada en metros al cuadrado}$  ( $IMC = kg/m^2$ ).

La circunferencia de cintura se midió con cinta antropométrica marca Seca, modelo 201, con el paciente en posición de pie, al final de la espiración, sobre la línea axilar y en el punto medio entre el reborde costal y la cresta ilíaca.

Las mediciones se realizaron de forma basal y posterior a inicio de intervención en los días 7, 14, 21 y 28.

### 3. Composición corporal

Se determinó composición corporal a todos los participantes mediante bioimpedanciometría eléctrica, con equipo SECA mBCA 525 (medical Body Composition Analyzer), de acuerdo con el protocolo recomendado por el fabricante (ANEXO 3). Se registró el porcentaje de masa grasa, índice de masa grasa y masa de músculo esquelético.

La medición se realizó de forma basal y al terminar los 28 días de intervención.

### 4. Recolección de muestra de sangre venosa y química clínica

En ayuno de 12 horas, se tomaron muestra de sangre venosa a primera hora de la mañana, 10 mL para determinar glucosa sérica, perfil de lípidos que incluyó colesterol total, triglicéridos, C-HDL, C-LDL y beta hidroxibutirato sérico.

La sangre venosa se centrifugó para separar el suero el cual se dividió en varias alícuotas. De forma inmediata se realizó la medición de glucosa sérica y perfil lipídico incluyendo colesterol total, triglicéridos, C-HDL y C-LDL utilizando técnicas colorimétricas automatizadas (Mindray BS-200).

#### - **Glucosa sérica**

Tabla 1. Glucosa sérica. Rangos de referencia

| Nivel       | Rango de referencia |
|-------------|---------------------|
| Adulto Sano | 74-110 mg/dL        |

#### - **Colesterol total, C-HDL y C-LDL**

La determinación cuantitativa de colesterol total se realizó mediante espectrofotometría, para la cual se utilizó el kit comercial *Spinreact*, el cual incluye los reactivos que contienen las enzimas colesterol esterasa (CHE), colesterol oxidasa (CHOD), peroxidasa (POD) y fenol.

El principio del análisis es la acción combinada de dichas enzimas para dar un producto final coloreado, con absorbancia máxima a 505 nm. La relación absorbancia/concentración es lineal hasta concentraciones de colesterol de 750 mg/100 mL. Mediante el procedimiento se obtiene CT, C-HDL. C-LDL.

1. La colesterol esterasa (CHE) hidroliza los ésteres de colesterol a colesterol y ácidos grasos libres.
2. La colesterol oxidasa (CHOD) oxida todo el colesterol a colesteno y peróxido de hidrógeno
3. El peróxido de hidrógeno es sustrato de una peroxidasa (POD) que junto con 4-aminofenazona da lugar a la formación de una quinona roja. La cantidad de esta quinona (505 nm) es proporcional a la concentración de colesterol de la muestra.

#### Material

- Pipetas y puntas
- Espectrofotómetro
- Centrífuga y tubos eppendorf
- Tubos de ensayo

**Tabla 2. Colesterol total. Rangos de referencia**

| Nivel              | Rango de referencia |
|--------------------|---------------------|
| Deseable           | <200mg/dL           |
| Moderadamente alto | 200-239 mg/dL       |
| Elevado            | >240 mg/dL          |

#### ***HDL Colesterol***

**Tabla 3. Colesterol HDL. Rangos de referencia**

| <b>Nivel</b>  | <b>Valor de referencia</b> |
|---------------|----------------------------|
| Normal Mujer  | >45mg/dL                   |
| Normal Hombre | >35 mg/dL mg/dL            |

### ***Triglicéridos***

La determinación cuantitativa de triglicéridos (TGL) se realizó mediante un kit comercial Wiener Lab que contiene las enzimas y sustratos necesarios para cuantificar mediante técnicas colorimétricas la cantidad de TGL en la muestra.

Los reactivos y enzimas utilizadas fueron: LPL (lipoproteín lipasa), GK (glicerolcínasa), GPO (glicerol 3 oxidada), POD (peroxidasa) con las reacciones como se muestra enseguida

- 1) Una lipasa hidroliza los TG generando glicerol y ácidos grasos libres.
- 2) El glicerol formado es sustrato de la glicerolcínasa que en presencia de ATP lo fosforila a glicerol-3-fosfato
- 3) El glicerol-3-P es oxidado a dihidroxiacetona-3-P por la glicerol 3-fosfato oxidasa, generando también peróxido de hidrógeno
- 4) El peróxido de hidrógeno es el sustrato de una peroxidasa, que en presencia de clorofenol y 4-aminofenazona forman una quinona roja cuantificable a 505 nm. Esta quinona formada es proporcional a la concentración de TG presente en la muestra.

**Tabla 4. Triglicéridos. Rango de referencia**

| <b>Nivel</b>  | <b>Rango de referencia</b> |
|---------------|----------------------------|
| Normal Mujer  | 35-135 mg/dL               |
| Normal Hombre | 40-160 mg/dL               |

### ***β-hidroxibutirato***

Una de las alícuotas se conservó en congelación a -20 °C para su posterior uso y determinación de β-hidroxibutirato (BHB) mediante ensayo de inmunoasbsorción ligado a enzimas, ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, por sus siglas en inglés) para la cual se utilizó Beta-Hydroxubutirate Assay Kit de Sigma-Aldrich. Posterior a dos reacciones enzimáticas se obtiene un producto en una escala colorimétrica (450 nm) proporcional a la cantidad de BHB presente en la muestra.

Este análisis se realizó de forma basal y después de 28 días de intervención nutricional con dieta cetogénica.

### **5. Recolección de muestra de heces**

Se entregó a cada participante un kit de recolección de heces, DNAgenotek™ que consta de un tubo de ensayo con estabilizador de ADN y espátula recolectora. La muestra se recolectó de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Se entregaron instrucciones ilustrativas para la recolección y almacenamiento (ANEXO 7).

### **6. Diseño de dieta cetogénica isocalórica personalizada**

Se realizó para cada uno de los participantes una dieta cetogénica, isocalórica, de acuerdo con la ecuación de Harris-Benedict para el metabolismo basal. La distribución de los macronutrientes se realizó de la siguiente manera: 5% carbohidratos, 25% proteína, 70% grasa y se entregó una sugerencia de menú diario con de tres comidas principales y dos colaciones, además de una lista de equivalentes con instrucciones para su correcta utilización. La dieta se diseñó por un profesional en nutrición y se llevó a cabo durante 28 días.

### ***Recordatorio de 24 horas***

Los participantes recibieron tres llamadas telefónicas a la semana, por parte del equipo investigador; dos llamadas en días hábiles y una el fin de semana, todas de forma aleatoria. Se interrogó a los participantes sobre los alimentos consumidos durante el día de la llamada, se consideró como “apego a la dieta” a aquellos participantes que ingirieron menos del 20% de carbohidratos, calculados de acuerdo con la lista de equivalentes. El cálculo se realizó por el entrevistador (ANEXO 5).

## **7. Extracción de ADN**

La extracción de ADN genómico fecal se realizó de acuerdo con las instrucciones del kit comercial *QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit* (Qiagen, EUA). La muestra se almacenó a -20°C hasta su procesamiento para la etapa de secuenciación que se realizó en las Instalaciones del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), Ensenada, B.C.

El material y protocolo *QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit* (Qiagen, EUA) fue el siguiente:

Material:

Pipetas de 20 µl y 1000 µl.

Puntas con filtro para pipeta

Tubos eppendorf 1.5 mL y 2 mL.

Microcentrifuga eppendorf

Vortex

Incubadora

Protocolo de extracción recomendado por el fabricante de kit de extracción, *QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit* (Qiagen, EUA) con sus reactivos.

1. Se extrajo 220-250 µl de heces de cada kit de recolección DNAgenotek™ y se colocó en tubo de microcentrifugadora de 2 mL.

2. Se agregó en cada tubo 1 mL del Buffer InhibitEX. Vortex durante 1 minuto hasta homogeneizar la muestra.
3. Se incubó la suspensión durante 5 minutos a 95°C y posterior vórtex por 15 segundos.
4. Se centrifugaron las muestras durante 5 minutos a 14,000 rpm.
5. En un tubo de microcentrífuga nuevo de 1.5mL se agregó 15  $\mu$ l de proteinasa K.
6. Se agregó a la Proteinasa K, 200  $\mu$ l de sobrenadante proveniente del paso 4.
7. Se agregó en ese mismo tubo 200  $\mu$ l de Buffer AL y vórtex por 15 segundos.
8. Se incubó a 70°C por 10 minutos
9. Se agregó 200  $\mu$ l de Etanol al 100% y vórtex por 15 segundos.
10. Se obtuvo 600  $\mu$ l de lisado de paso 9 y se aplicó cuidadosamente dentro de la *QIAamp spin column* cerrando la tapa y se centrifugó durante 3 minutos a 14,000 rpm. Se colocó la *QIAamp spin column* dentro de un tubo colector nuevo de 2mL.
11. Se abrió la *QIAamp spin column* y se agregaron 500  $\mu$ l de Buffer AW1 se centrifugó por 3 minutos a 14,000 rpm. Se colocó la *QIAamp spin column* dentro de un tubo colector nuevo de 2 mL. Se descartó el tubo con el filtrado.
12. Se abrió la *QIAamp spin column* y se agregaron 500  $\mu$ l de Buffer AW2 se centrifugó durante 3 minutos a 14,000 rpm. Se descarta el tubo con el filtrado.
13. Se colocó la *QIAamp spin column* dentro de un tubo colector nuevo de 2 mL y se centrifugó durante 3 minutos a 14,000 rpm. Se descartó el tubo con el filtrado.
14. La *QIAamp spin column* se transfirió a un nuevo tubo de microcentrífuga de 1.5 mL y se agregó 200  $\mu$ l de Buffer ATE cuidadosamente directo



sobre la membrana de la *spin column* se mantuvo incubada a temperatura ambiente durante 5 minutos y posteriormente se centrifugó a 14,000 rpm durante 3 minutos.

El ADN eluído se mantuvo en congelación a -20°C hasta la etapa de secuenciación.

## **8. Secuenciación de microbiota fecal**

El ADN genómico obtenido se cuantificó mediante fluorescencia utilizando el fluorímetro usando Qubit® (Thermo Fisher, EUA) con el reactivo Qubit® dsDNA HS Assay (Molecular Probes, EUA). La calidad del ADN se visualizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. Se prepararon las bibliotecas de secuenciación mediante PCR de punto final y usando los oligonucleótidos que contenían los oligos reportados para la región hipervariable V4 del gen del 16S del rRNA por Caporaso *et al.* (2010), los índices individuales para identificar cada muestra y los adaptadores para unión a la celda de secuenciación. El indexado fue dual como se describe en Kozich *et al.* (2013). Las bibliotecas fueron preparadas en el Laboratorio de Metagenómica del CICESE. La secuenciación fue *paired-end* (2 x 150 bp) y se realizó en la plataforma MiSeq de Illumina (Illumina, EUA) que se encuentra en dicho centro, usando el kit *MiSeq Reagent Kit v2* (300-cycles) (Illumina, EUA).

### ***Procesamiento de las muestras***

Las secuencias de las muestras se descargaron de la nube de Illumina BaseSpace™, y todos los análisis posteriores se llevaron a cabo en el software RStudio v.3.6.2 (R Core Team, 2019). Se utilizó la librería *cutadapt* (Davis *et al.*, 2018) para detectar si las secuencias contenían amplicones y, en caso de ser necesario, eliminarlos.

Las secuencias se procesaron con la librería DADA2 (Callahan *et al.*, 2016) siguiendo los procedimientos necesarios para muestras con secuencias pareadas (*paired-end*). En general, el procesamiento consistió en los siguientes

pasos: a) Eliminación de secuencias con nucleótidos indeterminados, de menos de 120 pb de longitud y con un número máximo de errores previstos de 2 (maxEE=2, trunQ=2), b) reducción de la redundancia, se desarrolló un modelo de error probabilístico para eliminar las secuencias erróneas y los duplicados de las secuencias (*dereplicated*), c) inferencia de ASVs (ASV, por sus siglas en inglés (amplicon sequence variants)), realizada con el método pseudo-pooling, que permite incrementar la detección de ASVs poco abundantes y es adecuado para experimentos longitudinales y d) unión de las secuencias forward y reverse y eliminación de quimeras (artefactos de PCR). El resultado fue una tabla de las abundancias de ASVs por muestra.

### ***Asignación taxonómica***

La asignación taxonómica se realizó utilizando la base de datos SILVA 138 (Quast et al., 2013), que ha sido entrenada para la librería DADA2. La asignación taxonómica se llevó hasta nivel de especie (*assignSpecies*), permitiendo asignaciones múltiples (allowMultiple=TRUE) en el caso de que las secuencias tuvieran varias coincidencias exactas con diferentes especies bacterianas.

### ***Eliminación de secuencias contaminantes***

El programa *decontam* (Davis et al., 2018), se utilizó para identificar secuencias contaminantes en las muestras y eliminarlas. El método utilizado (*frequency*) se basa en la frecuencia de los ASV y en las secuencias encontradas en los controles negativos. La tabla final de resultados incluye: la frecuencia de cada ASV, un valor p ( $p < 0.05$ ) asociado a la probabilidad de que la secuencia sea un contaminante y una columna con valores “verdadero o falso”, basada en la evidencia estadística de que la secuencia excede el umbral de detección de contaminantes establecido (threshold= 0.1).

### ***Grupo núcleo***

La variable “dieta” se utilizó como factor de agrupación para evaluar el grupo núcleo de los participantes del estudio y los resultados se graficaron en

diagramas de Venn. Los ASV presentes en al menos el 80% de las muestras se consideraron parte del grupo núcleo de la microbiota, y la abundancia no se consideró como factor limitante. Además, con la librería UpSetR v.1.4.0. (Conway et al., 2017), se construyeron diagramas UpSet para mostrar los ASVs únicos y compartidos dentro de los grupos de estudio.

### ***Diversidad alfa***

En el análisis de diversidad alfa, se eliminaron secuencias con asignaciones taxonómicas que no fueron de interés y que podrían corresponder a falsos positivos como: a) asignadas a mitocondrias y cloroplastos, b) secuencias de *phyla* con prevalencias menores a 1 y c) *phyla* sin asignación taxonómica. Para conocer si la profundidad de secuenciación fue óptima para poder caracterizar la comunidad microbiana, se creó una gráfica de rarefacción basada en la riqueza y el número de lecturas obtenidas por muestra. Los perfiles taxonómicos se crearon con las librerías *fantaxtic* (<https://github.com/gmteunisse/Fantaxtic>) y *ampvis2* (Andersen et al., 2018).

Las estimaciones de diversidad alfa se calcularon con los conteos crudos de ASVs con la paquetería *phyloseq* (Callahan et al., 2016) y únicamente se consideraron aquellos participantes que culminaron con el estudio. En metagenómica, la diversidad alfa se refiere a la riqueza de ASVs en cada muestra y la uniformidad de su distribución. Los índices de diversidad alfa empleados fueron: a) Shannon, b) número de especies observadas, c) la diversidad filogenética de Faith (PD), que además de considerar el número de especies presentes, pondera sus relaciones filogenéticas.

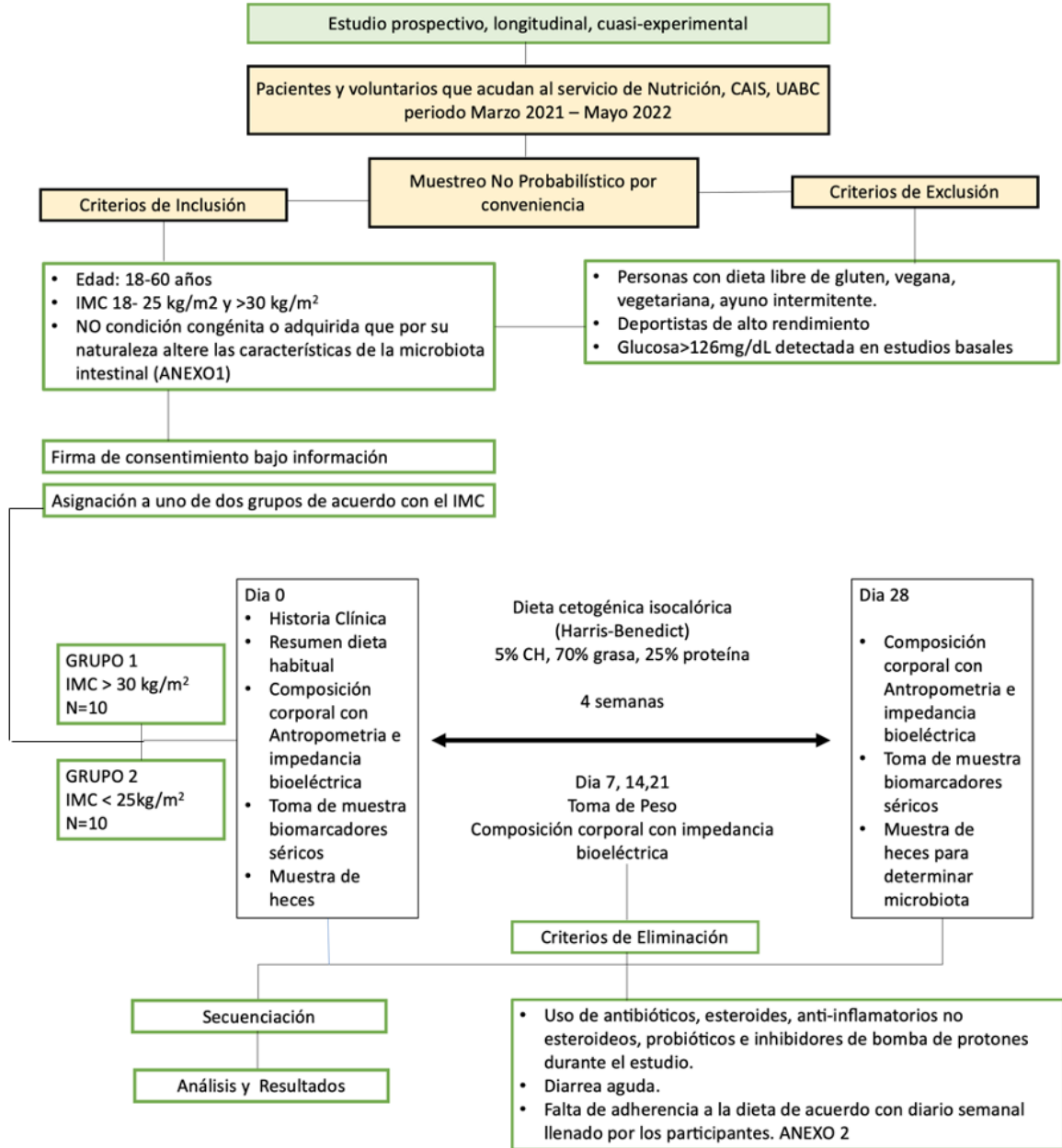
Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la distribución de los resultados obtenidos en cada índice (normalidad) y se evaluó la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Bartlett. Debido al diseño experimental, en donde se tomaron muestras de un mismo participante antes y después de someterse a una dieta cetogénica, el supuesto de independencia en los datos no se cumple. Debido a que cada individuo posee una variabilidad natural en su

microbiota, las respuestas al cambio de dieta de una misma persona no pueden considerarse independientes entre sí. Por lo tanto, para considerar la variabilidad natural de los participantes, se crearon modelos mixtos en donde se consideró a los participantes como efectos aleatorios, los índices de diversidad alfa (Shannon, ASVs observados y PD) como variables dependientes y las variables “dieta” y “peso” como variables independientes (efectos fijos).

Para analizar si existen diferencias en índices de diversidad respecto a las variables de interés, se crearon tres tipos de modelos de efectos lineales mixtos. Estos modelos se compararon con una prueba de ANOVA para determinar cuál de ellos explicaba mejor los resultados de los índices de diversidad alfa. En cada modelo se consideró como efecto aleatorio a los participantes del estudio:

- 1) Modelo completo: incluyó la relación entre la dieta (normal/ cetogénica) y el peso (saludable/obeso), así como la interacción de ambas variables. Como variable dependiente se consideró el índice de diversidad alfa a analizar (Shannon, especies observadas o diversidad filogenética).
- 2) Modelo parcial: incluyó solamente alguna de las variables de interés (dieta o peso), dependiendo de los resultados del modelo completo. Como variable dependiente se consideró el índice de diversidad alfa a analizar (Shannon, especies observadas o diversidad filogenética).
- 3) Modelo nulo: Solamente se consideró la variable dependiente (índice de diversidad alfa a analizar) y el efecto aleatorio (los participantes).

Las gráficas de los resultados se crearon con la librería ggplot2 (Wickham, 2009).

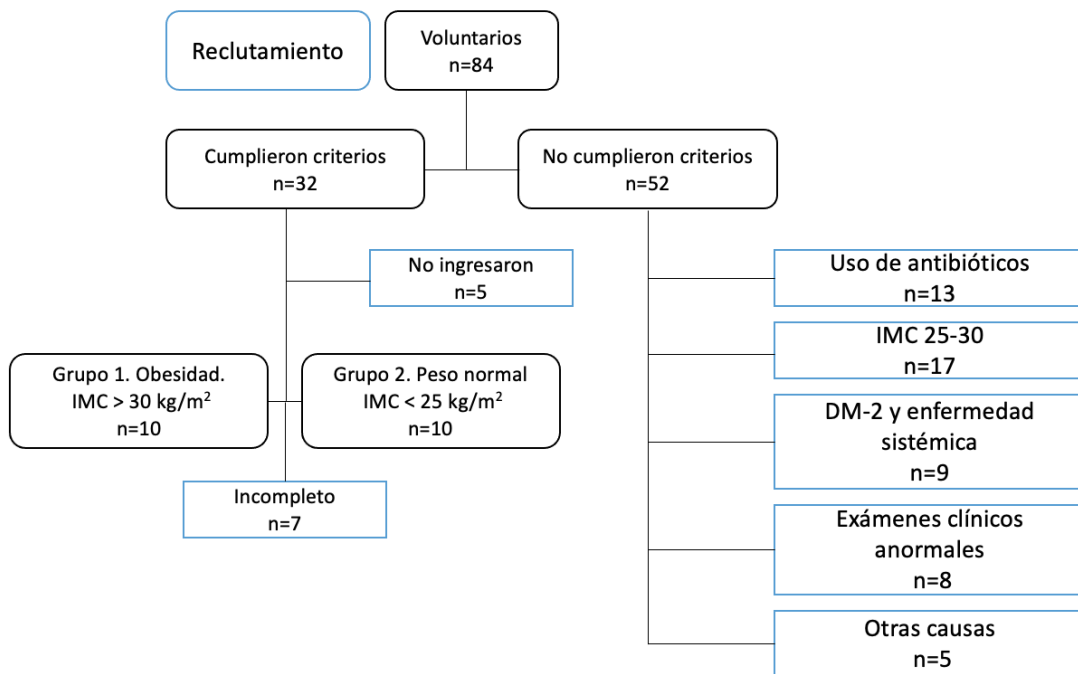


**Figura 5.** Diseño del proyecto

**CAPÍTULO IV**  
**RESULTADOS**

## Reclutamiento y asignación de grupo

Se realizó una invitación mediante redes sociales para el reclutamiento de voluntarios, con un total de  $n=76$  participantes, de los cuales 32 cumplieron los criterios de ingreso y  $n=27$  decidieron participar, de los cuales 20 completaron las 4 semanas del estudio. En el grupo 1, se incluyeron 10 participantes con obesidad ( $\text{IMC} > 30 \text{ kg/m}^2$ ), 2 hombres y 8 mujeres. En el grupo con peso normal ( $\text{IMC} 18\text{-}25 \text{ kg/m}^2$ ) se tuvieron 10 participantes, 2 hombres y 8 mujeres (Figura 6).



**Figura 6.** Reclutamiento de participantes

### a) Datos sociodemográficos

De acuerdo con las características sociodemográficas en ambos grupos predominó el sexo mujer, con una representación del 80% de los casos en cada grupo. El 95% de los participantes fueron menores de 40 años. En cuanto a escolaridad más del 50% concluyó un nivel universitario. Se realizó comparación de variables categóricas mediante  $X^2$  y prueba exacta de Fisher, sin encontrar diferencias significativas por grupo, lo cual indica que ambos grupos cuentan con características similares (Tabla 5).

**Tabla 5. Datos sociodemográficos por grupo**

|                     |              | Grupo obesidad |     | Peso normal |     | Total |     | $X^2$ |
|---------------------|--------------|----------------|-----|-------------|-----|-------|-----|-------|
|                     |              | N              | %   | N           | %   | N     | %   | P     |
| <b>Sexo</b>         | Mujer        | 8              | 80  | 8           | 80  | 16    | 80  | 0.70* |
|                     | Hombre       | 2              | 20  | 2           | 20  | 4     | 20  |       |
|                     | Total        | 10             | 100 | 10          | 100 | 20    | 100 |       |
| <b>Escolaridad</b>  | Primaria     | 1              | 10  | 0           | 0   | 1     | 5   | 0.49  |
|                     | Secundaria   | 1              | 10  | 0           | 0   | 1     | 5   |       |
|                     | Bachillerato | 2              | 20  | 5           | 50  | 7     | 35  |       |
|                     | Universidad  | 5              | 50  | 4           | 40  | 9     | 45  |       |
|                     | Posgrado     | 1              | 10  | 1           | 10  | 2     | 10  |       |
|                     | Total        | 10             | 100 | 6           | 100 | 16    | 100 |       |
| <b>Estado civil</b> | Soltero      | 6              | 60  | 6           | 60  | 12    | 60  | 0.26  |
|                     | Casado       | 4              | 40  | 2           | 20  | 6     | 30  |       |
|                     | Unión libre  | 0              | 0   | 2           | 20  | 2     | 10  |       |
|                     | Divorciado   | 0              | 0   | 0           | 0   | 0     | 0   |       |
|                     | Viudo        | 0              | 0   | 0           | 0   | 0     | 0   |       |
|                     | Total        | 10             | 100 | 6           | 100 | 16    | 100 |       |
| <b>Grupo etario</b> | 18 - 30 años | 5              | 50  | 6           | 60  | 11    | 55  |       |
|                     | 31 - 40 años | 4              | 40  | 4           | 40  | 8     | 40  |       |
|                     | 41 - 50 años | 1              | 10  | 0           | 0   | 1     | 5   |       |
|                     | Total        | 10             | 100 | 10          | 100 | 20    | 100 |       |

\*Se realizó prueba exacta de Fisher debido a la presencia de casillas con número menor a 5.

#### **b) Datos antropométricos y composición corporal**



Con respecto a los datos antropométricos, en el grupo obesidad, el promedio de peso corporal fue  $92.15 \pm 7.58$  kg, con un IMC medio de  $33.05 \text{ kg/m}^2$ ; por otro lado, en el grupo con peso normal el promedio del peso corporal fue  $60.69 \pm 9.01$  kg con un IMC medio de  $22.95 \pm 1.87 \text{ kg/m}^2$  (Tabla 6).

**Tabla 6. Peso e IMC al ingreso**

| <b>Parámetro</b>              | <b>Grupo</b>             |                            | <b>P</b> |
|-------------------------------|--------------------------|----------------------------|----------|
|                               | <b>Obesidad</b><br>n=10  | <b>Peso Normal</b><br>n=10 |          |
|                               | <b><i>Media ± DE</i></b> |                            |          |
| <b>Peso (kg)</b>              | 92.15 ± 7.58             | 60.69 ± 9.01               | <0.001   |
| <b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b> | 33.05 ± 2.38             | 22.95 ± 1.87               | <0.001   |
| <b>CC (cm)</b>                | 102.2 ± 6.74             | 78.3 ± 8.62                | < 0.001  |

Asimismo, en la composición corporal por bioimpedancia en el grupo obesidad los parámetros referentes a tejido adiposo fueron superiores en un 200% con respecto al grupo con peso normal. El promedio de masa grasa en el grupo obesidad fue de  $39.76 \pm 7.17$  kg; en contraste, en el grupo con peso normal, la media obtenida fue  $15.17 \pm 5.63$  kg. Igualmente, para el índice de masa grasa que corresponde a kilogramos de masa grasa por metro cuadrado fue superior en el grupo con obesidad. A pesar de dichos hallazgos, la masa de músculo esquelético también fue mayor en el grupo obesidad con diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el análisis de t-Student para la comparación de medias independientes. El promedio en el grupo obesidad fue de  $25.46 \pm 3.91$  kg; por el contrario, en el grupo con peso normal, la masa de músculo esquelético fue menor con promedio de  $20.83 \pm 5.5$  kg ( $p < 0.001$ ) (Tabla 7).

Tabla 7. Composición corporal al ingreso

| Parámetro                                   | Grupo             |                     | <i>P</i> |
|---------------------------------------------|-------------------|---------------------|----------|
|                                             | Obesidad<br>n=10  | Peso Normal<br>n=10 |          |
|                                             | <b>Media ± DE</b> |                     |          |
| <b>Masa grasa (kg)</b>                      | 39.76 ± 7.17      | 15.17 ± 5.63        | <0.001   |
| <b>Masa grasa (%)</b>                       | 43.16 ± 5.78      | 25.44 ± 9.42        | <0.001   |
| <b>Índice masa grasa (kg/m<sup>2</sup>)</b> | 14.98 ± 3.38      | 7.23 ± 1.10         | <0.001   |
| <b>Músculo esquelético (kg)</b>             | 25.46±3.91        | 20.83±5.52          | <0.001   |
| <b>Grasa visceral</b>                       | 3.2±1.1           | 1.72±0.67           | <0.001   |
| <b>Ángulo de fase</b>                       | 6.54±0.76         | 6.8±1.055           | 0.463    |

### c) Química clínica

De igual forma se realizó un análisis de química clínica en ambos grupos, para determinar las concentraciones de lípidos, glucosa y β-hidroxibutirato. No se encontraron resultados estadísticamente significativos entre los dos grupos en lo que respecta a colesterol total, colesterol de baja densidad, colesterol de alta densidad y glucosa sérica; no obstante, el nivel de triglicéridos fue significativamente mayor en el grupo obesidad con una media de 103.60 ± 68.20mg/dL mientras que en el grupo con peso normal el valor promedio fue 62.8 ± 30.07 (*p*=0.004) (Tabla 8).

Tabla 8. Química clínica al ingreso

| Grupo |
|-------|
|-------|

| Parámetro              | Obesidad<br>n=10 | Peso Normal<br>n=10 | p*           |
|------------------------|------------------|---------------------|--------------|
| <b>Media ± DE</b>      |                  |                     |              |
| <b>CT (mg/dL)</b>      | 177.40 ± 22.72   | 175.97 ± 22.56      | 0.88         |
| <b>TGL (mg/dL)</b>     | 103.60 ± 68.20   | 68.2 ± 30.07        | <b>0.004</b> |
| <b>C-LDL (mg/dL)</b>   | 115.2 ± 27.29    | 108.0 ± 24.79       | 0.54         |
| <b>C- HDL (mg/dL)</b>  | 46.60 ± 7.66     | 53.50 ± 19.66       | 0.31         |
| <b>Glucosa (mg/dL)</b> | 107.83 ± 9.92    | 99.47 ± 6.11        | 0.036        |

\*Prueba estadística con t de Student para muestras independientes.

### Grupo obesidad

#### a) Antropometría en Grupo Obesidad posterior a la intervención

El promedio de peso en el grupo obesidad fue de 92.15 kg al ingreso y posterior a las 4 semanas de régimen dietético con una dieta cetogénica isocalórica se encontró una media de 89.80 kg (DE±8.47), en el análisis estadístico mediante t-Student para muestras relacionadas, se encontró una diferencia significativa con una p=0.044 (Tabla 9).

De igual forma se midieron el IMC y la circunferencia de cintura, mostrando una disminución respecto a la medición basal, sin encontrar diferencias significativas (Tabla 9).

**Tabla 9. Grupo Obesidad. Antropometría**

| Parámetro | Media | t | p |
|-----------|-------|---|---|
| Inicio    | Final |   |   |

|                               |                     |                      |      |              |
|-------------------------------|---------------------|----------------------|------|--------------|
| <b>Peso (kg)</b>              | 92.15 DE $\pm$ 7.58 | 89.80 $\pm$ DE 8.47  | 2.34 | <b>0.044</b> |
| <b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b> | 33.50 $\pm$ DE 2.38 | 32.65 $\pm$ DE 2.36  | 2.25 | 0.051        |
| <b>CC (cm)</b>                | 102.2 $\pm$ DE 6.74 | 100.90 $\pm$ DE 6.40 | 1.85 | 0.096        |

\*Prueba estadística con t de Student para muestras relacionadas.

#### b) Química clínica en el grupo obesidad posterior a la intervención.

Se determinó la glucosa sérica y perfil de lípidos, sin encontrar diferencias significativas, a excepción del nivel de triglicéridos, que presentó un valor promedio al inicio de 114.4 mg/dL y al final una media de 103.3 mg/dL, con una  $p < 0.05$  (Tabla 10).

**Tabla 10. Química clínica al inicio y final de la intervención. Grupo obesidad**

| <b>Parámetro</b>       | <b>Media</b>         |                      | <b>t</b> | <b>p</b>     |
|------------------------|----------------------|----------------------|----------|--------------|
|                        | <b>Inicio</b>        | <b>Final</b>         |          |              |
| <b>CT (mg/dL)</b>      | 177.40 $\pm$ DE 22.7 | 171.63 $\pm$ DE15.7  | 0.79     | 0.47         |
| <b>TGL (mg/dL)</b>     | 103.60 $\pm$ DE 14.5 | 91.70 $\pm$ DE18.2   | 2.56     | <b>0.030</b> |
| <b>HDL (mg/dL)</b>     | 46.60 $\pm$ DE 7.66  | 43.40 $\pm$ DE 7.9   | 1.6      | 0.14         |
| <b>LDL (mg/dL)</b>     | 115.2 $\pm$ DE 27.9  | 118.0 $\pm$ DE 25.3  | -0.27    | 0.79         |
| <b>Glucosa (mg/dL)</b> | 107.83 $\pm$ DE 9.9  | 107.25 $\pm$ DE 10.1 | 0.25     | 0.80         |

#### c) Composición corporal posterior a la intervención en el grupo Obesidad.

No se encontraron cambios estadísticamente significativos en cuanto a tejido graso; no obstante, se encontró una disminución en la media de músculo esquelético con un promedio al inicio de  $25.46 \pm 3.91$  kg y al final de  $24.63 \pm 4.27$  kg, con una  $p < 0.05$  en el análisis estadístico.

A pesar de encontrar disminución significativa en peso corporal, dicha pérdida fue secundaria a la pérdida de masa muscular, lo cual se explica por el tipo de intervención nutricional basada principalmente en grasa y no en proteína. Dicha situación puede ser interpretada de manera errónea en caso de que se tome en cuenta como objetivo únicamente el peso corporal (Tabla 11).

**Tabla 11. Composición corporal. Grupo obesidad**

| <b>Parámetro</b>                               | <b>Media</b>        |                     | <b><i>t</i></b> | <b><i>p</i></b> |
|------------------------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------|-----------------|
|                                                | <b>Inicio</b>       | <b>Final</b>        |                 |                 |
| <b>Masa Grasa (kg)</b>                         | 39.76 $\pm$ DE 7.17 | 40.84 $\pm$ DE 6.6  | -0.75           | 0.47            |
| <b>Índice de masa grasa (kg/m<sup>2</sup>)</b> | 14.32 $\pm$ DE 2.75 | 14.97 $\pm$ DE 2.91 | -1.21           | 0.25            |
| <b>Músculo esquelético (kg)</b>                | 25.46 $\pm$ DE 3.91 | 24.63 $\pm$ DE 4.27 | 4.34            | <b>0.002</b>    |

### **Grupo peso normal**

#### **a) Antropometría en Grupo con peso normal**

El promedio de peso en el grupo con peso normal fue de 60.69 kg±9.5 kg al ingreso y de 59.45±9.5 kg posterior a las 4 semanas de régimen dietético. El análisis estadístico mediante t de Student para muestras relacionadas, no mostró diferencias significativas, con una p=0.174; de igual manera no hubo significancia para el IMC y la circunferencia de cintura (Tabla 12).

**Tabla 12. Antropometría. Grupo peso normal**

| <b>Parámetro</b>             | <b>Media</b>    |                 | <b>t</b> | <b>P</b> |
|------------------------------|-----------------|-----------------|----------|----------|
|                              | <b>Inicio</b>   | <b>Final</b>    |          |          |
| <b>Peso (kg)</b>             | 60.69 ± DE 9.01 | 59.45 ± DE 9.5  | 1.45     | 0.174    |
| <b>IMC(kg/m<sup>2</sup>)</b> | 22.95 ± DE 1.87 | 22.42 ± DE 2.28 | 1.86     | 0.095    |
| <b>CC (cm)</b>               | 78.3 ± DE 8.62  | 77.40 ± DE 8.43 | 1.44     | 0.182    |

**b) Química clínica en el grupo peso normal posterior a la intervención.**

Se cuantificó el nivel de glucosa sérica y el perfil de lípidos, sin encontrar diferencias significativas. El colesterol total al inicio fue de 175.97 mg/dL y al término de la intervención de 196.56 mg/dL, sin significancia estadística (p=0.23). El nivel de triglicéridos al inicio del estudio fue de 68.20 mg/dL y posterior a régimen dietético se encontró un promedio de 57.30 mg/dL. A pesar de que hubo una disminución ésta no fue significativa, con base en la prueba t de Student para muestras relacionadas (Tabla 10).

**Tabla 13. Química clínica. Grupo peso normal**

| Parámetro       | Media             |                   | <i>t</i> | <i>p</i> |
|-----------------|-------------------|-------------------|----------|----------|
|                 | Inicio            | Final             |          |          |
| CT (mg/dL)      | 175.97 ± DE 22.56 | 196.56 ± DE 53.43 | -1.28    | 0.23     |
| TGL (mg/dL)     | 68.20 ± DE 30.07  | 57.30 ± DE 20.42  | 1.63     | 0.13     |
| HDL (mg/dL)     | 53.50 ± DE 19.66  | 51.20 ± DE 21.60  | 0.27     | 0.79     |
| LDL (mg/dL)     | 108.00 ± DE 24.79 | 133.00 ± DE 55.58 | -1.51    | 0.16     |
| Glucosa (mg/dL) | 99.47 ± DE 6.11   | 101.83 ± DE 10.32 | -0.95    | 0.36     |

**c) Composición corporal posterior a la intervención en el grupo con peso normal**

En todos los parámetros evaluados tanto masa grasa como tejido muscular, no se encontraron diferencias significativas posterior a la intervención. Aunque la tendencia en tejido graso fue positiva, la masa muscular, al contrario, presentó una disminución. Este resultado fue similar al encontrado en el grupo obesidad, donde se encontró una disminución en músculo esquelético (Tabla 14).

**Tabla 14. Composición corporal. Grupo peso normal**

| Parámetro                                 | Media           |                 | <i>t</i> | <i>p</i> |
|-------------------------------------------|-----------------|-----------------|----------|----------|
|                                           | Inicio          | Final           |          |          |
| Masa Grasa (kg)                           | 15.15 ± DE 5.63 | 15.36 ± DE 5.46 | -0.12    | 0.906    |
| Índice de masa grasa (kg/m <sup>2</sup> ) | 5.81 ± DE 2.27  | 5.89 ± DE 2.19  | -0.12    | 0.902    |
| Músculo esquelético (kg)                  | 20.83 ± DE 5.52 | 20.47 ± DE 5.42 | 0.50     | 0.62     |

**Betahidroxibutirato**

Se completó un total de ocho muestras para medición de  $\beta$ - hidroxibutirato (BHB) sérico, basal y posterior a la dieta cetogénica. Siete participantes fueron del grupo obesidad y un participante del grupo peso normal. La media en las muestras basales fue de  $0.012 \pm 0.006$  mmol/L y posterior a las 4 semanas de dieta cetogénica, la concentración media de BHB fue de  $0.177 \pm 0.04$  mmol/L, con un aumento significativo con respecto a la medición al inicio de la dieta cetogénica. No obstante, los niveles necesarios de BHB para considerar cetosis nutricional se han reportado por arriba de 0.5 mmol/L (A. Paoli et al., 2013; Gershuni et al., 2018; Ludwig et al., 2018).

**Tabla 15 Niveles de Beta-Hidroxibutirato**

| Niveles de $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) |             |                              |               |
|-------------------------------------------|-------------|------------------------------|---------------|
| N                                         |             | Mmol/L                       |               |
| 8                                         | BHB inicial | $0.012 \text{ DE} \pm 0.006$ | $p < 0.001^*$ |
| 8                                         | BHB final   | $0.177 \text{ DE} \pm 0.04$  |               |

\*Prueba t de Student para muestras relacionadas

## Microbiota intestinal

### a) Descripción general del set de datos

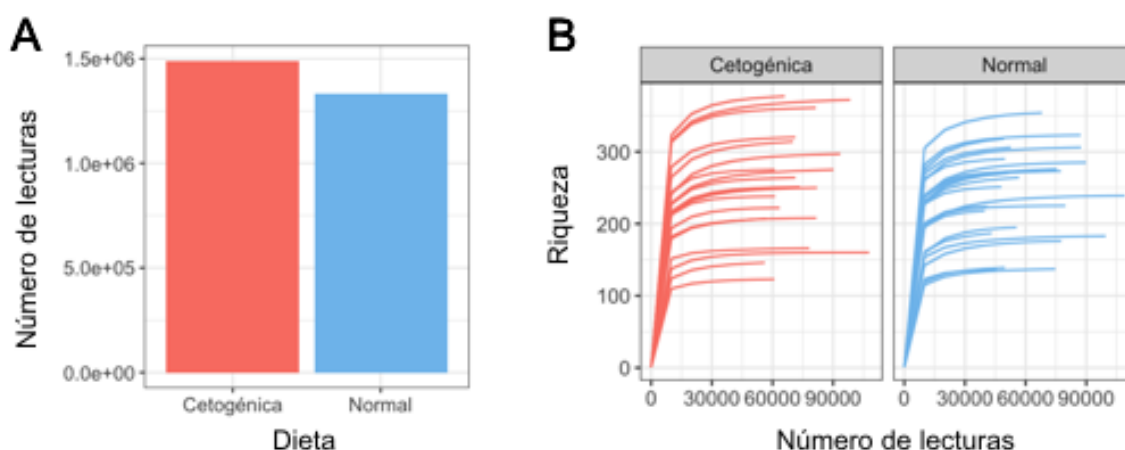
Se conservaron un total de 3 075 565 secuencias después del procesamiento de las muestras con la librería DADA2. El programa *decontam* detectó la presencia de 4 secuencias contaminantes, las cuales se asignaron a los géneros *Ruminococcus*, *Prevotella*, *Butyricimonas* y *Phascolarctobacterium*; estas secuencias se eliminaron de los análisis posteriores.

La muestra con el mayor y menor número de secuencias fue “26\_1” con 109 206 y “71\_1” con 39 768 lecturas, respectivamente. En general, el promedio de lecturas obtenidas fue 69 899.205 y el número de secuencias obtenidas entre



los grupos de dieta fue distinto, siendo mayor en las muestras de dieta cetogénica (Fig.7A). En promedio, las muestras tuvieron 247.850 ASVs.

Las 40 muestras que formaron el conjunto de datos final alcanzaron la asíntota en la gráfica de rarefacción (Fig.7B), lo que indica que su profundidad de secuenciación fue adecuada para muestrear toda la riqueza microbiana en cada muestra. Esta gráfica, agrupada según el tipo de dieta, muestra la cantidad de taxones encontrados en las muestras en función al número de secuencias obtenidas.

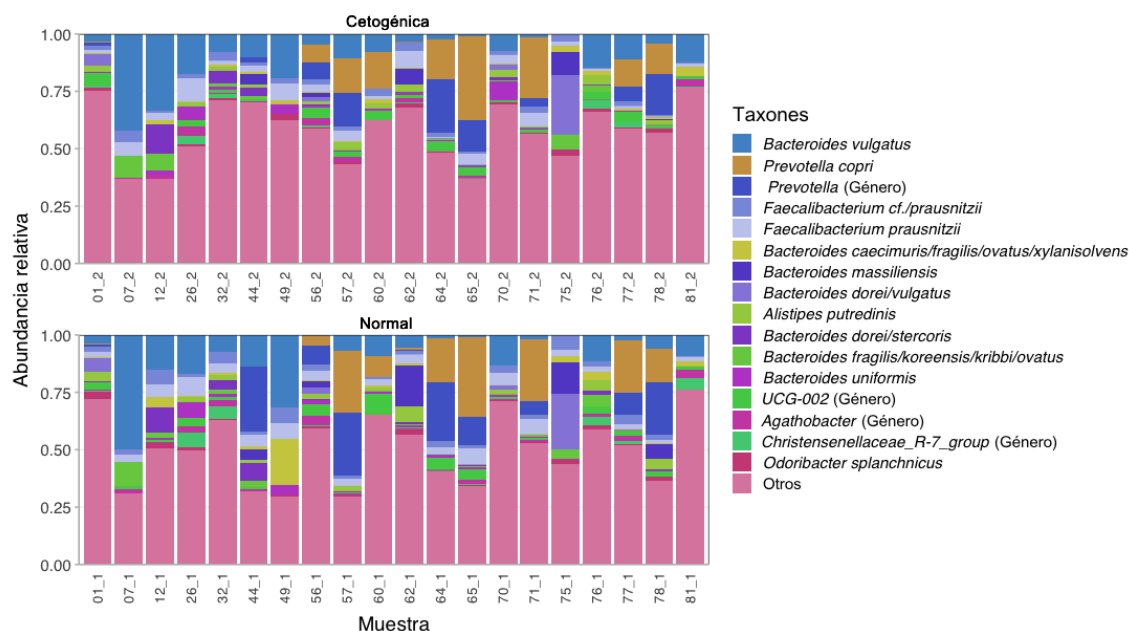


**Figura 7.** Descripción general del set de datos de las muestras de estudio. **A)** Cantidad de lecturas obtenidas por tipo de dieta. **B)** Gráfica de rarefacción por muestra, agrupada por tipo de dieta.

## b) Composición taxonómica de las muestras

En las muestras de estudio se detectaron 1332 ASVs únicos, representados por siete rangos taxonómicos (desde reino hasta especie). En total se identificaron: un reino (Bacteria), 11 *phyla*, 16 clases, 36 órdenes, 57 familias, 145 géneros y 162 posibles especies. De los *phyla* identificados, solamente cuatro tuvieron una alta prevalencia y abundancia, éstos fueron: Actinobacteriota, Bacteroidota, Firmicutes y Proteobacteria (Fig. 9A).

Los perfiles microbianos revelaron una alta variabilidad entre los individuos con el mismo tipo de dieta (Fig. 8), además, los taxones de bacterias más abundantes representan un porcentaje bajo de la abundancia total.

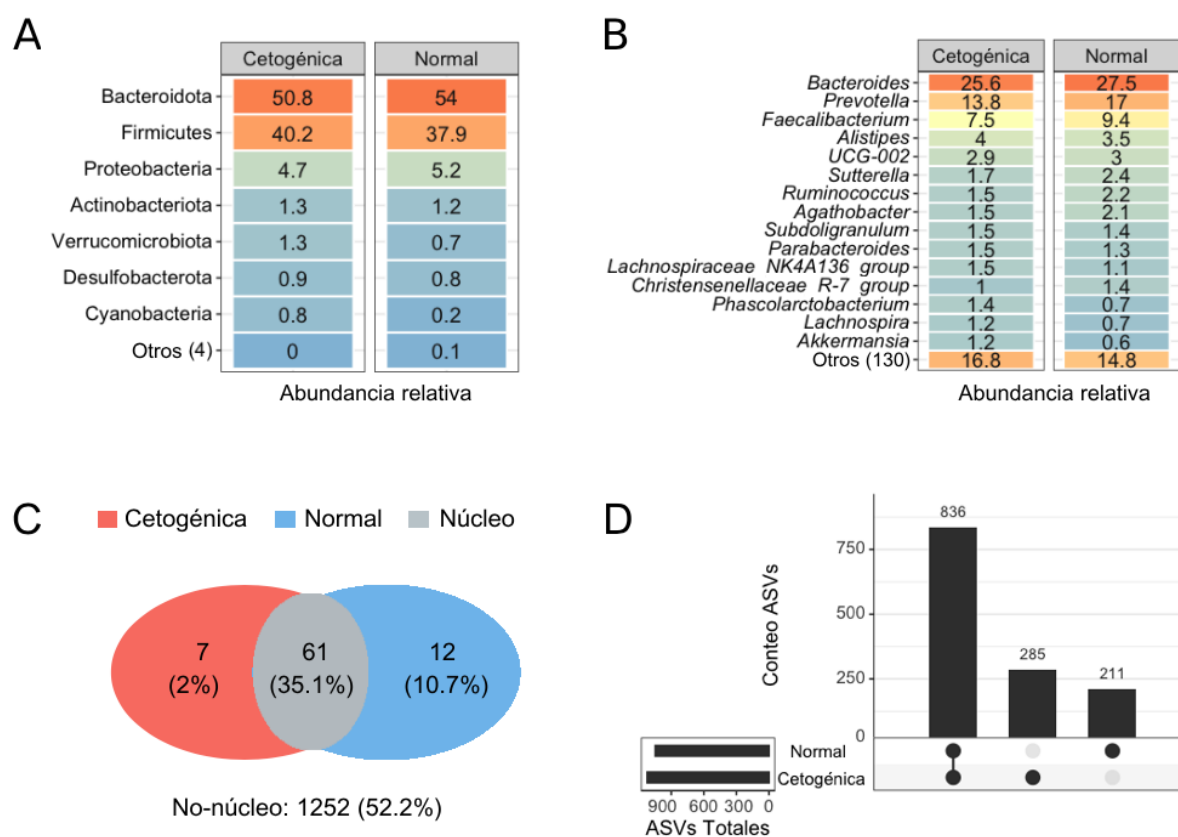


**Figura 8.** Perfil microbiano intestinal de las muestras de pacientes antes y después de someterse a una dieta cetogénica. Se muestran los taxones más abundantes, el resto de ellos están agrupados en la categoría de “Otros”.

## 1) Composición de las muestras con base en el tipo de dieta

En ambos tipos de dieta, se detectaron 5 *phyla* con una abundancia relativa mayor al 1%, éstos fueron: Bacteroidota, Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteriota y Verrumicrobiota (Fig. 9A). Los géneros más abundantes fueron: *Bacteroides*, *Prevotella* y *Faecalibacterium* (Fig. 9B), siendo *B. vulgatus*, *P. copri* y *F. prausnitzii*, las especies que se detectaron en más del 80% de las muestras de ambos tipos de dieta. El grupo núcleo de ambos tipos de dieta estuvo conformado por 61 miembros bacterianos que representaron el 35.1% de la abundancia relativa total (Fig. 9C). El grupo núcleo de los individuos con dieta cetogénica es menor que aquellos que no poseen una dieta restringida (Fig. 9C).

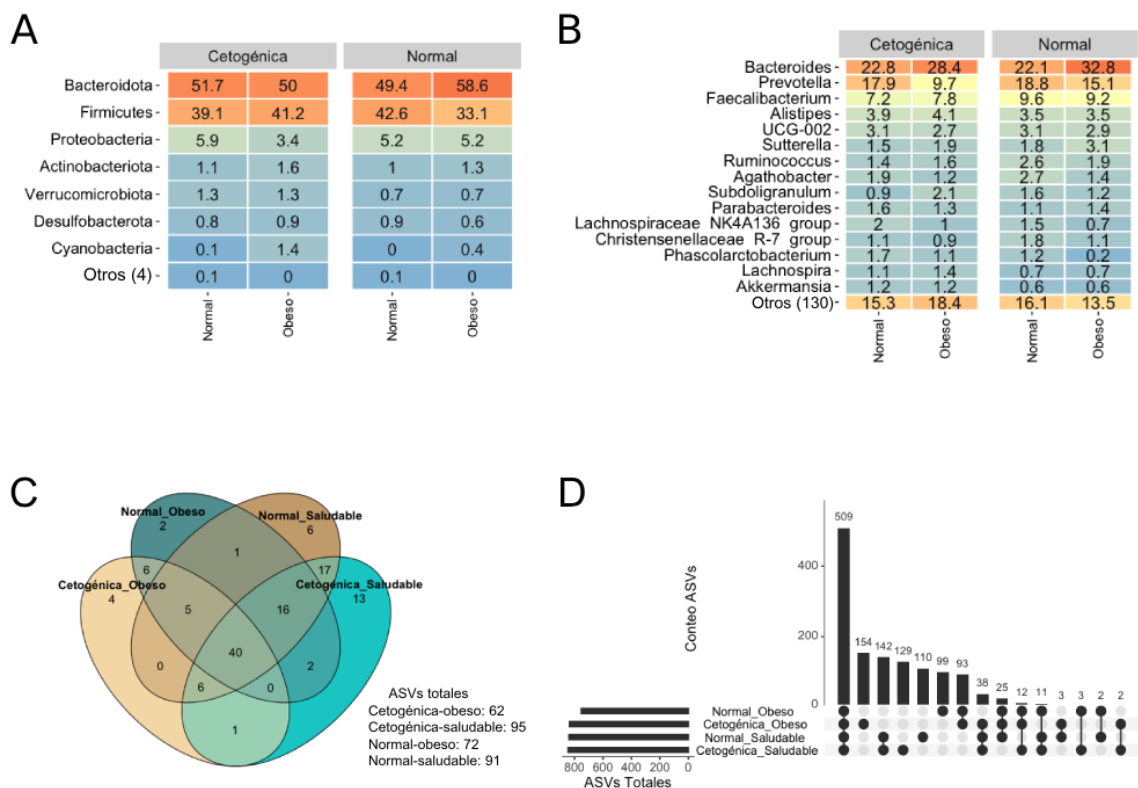
Las especies más abundantes por grupo fueron: *Bacteroides uniformis* en el grupo de dieta cetogénica, *Prevotella copri* en el grupo de dieta normal y *Bacteroides vulgatus* en el grupo núcleo compartido entre ambos tipos de dieta. Las muestras de dieta cetogénica tuvieron el mayor número de ASVs únicos y totales detectados y ambos tipos de dieta compartieron 836 ASVs (Fig. 9D).



**Figura 9.** Composición taxonómica de personas con dieta “normal” y dieta cetogénica. **A)** *Phyla* y **B)** géneros bacterianos de mayor abundancia entre los grupos de estudio. **C)** El grupo núcleo del microbioma entre especies consistió en ASVs con una prevalencia del 80%. El diagrama de Venn muestra el número de ASVs en cada núcleo. **D)** Número de ASV únicos (puntos), compartidos (puntos conectados) y totales (barras horizontales) entre los grupos de dieta.

## 2) Composición de las muestras con base en el tipo de dieta y peso

En la combinación de la dieta y el peso, los *phyla* de mayor abundancia fueron Bacteroidota, Firmicutes y Proteobacteria (Fig. 10A). Los géneros más abundantes fueron: *Bacteroides*, *Prevotella* y *Faecalibacterium* (Fig. 10B). El grupo núcleo de todas las posibles combinaciones de dieta y peso estuvo conformado por 40 miembros bacterianos (Fig. 10C). El grupo núcleo de los individuos con dieta cetogénica y peso saludable presentaron el mayor número miembros bacterianos exclusivos (13), mientras que los participantes con dieta normal y obesidad tuvieron un grupo núcleo más reducido (Fig. 10C). Además, los participantes con dieta cetogénica y peso saludable presentaron la mayor cantidad de ASVs totales; sin embargo, los participantes con dieta cetogénica y obesidad tuvieron el mayor número de ASVs únicos (Fig. 10D). En general, los participantes con peso saludable comparten más ASVs (142) que aquellos con obesidad (93). Todas las muestras compartieron 509 ASVs.



**Figura 10.** Composición taxonómica de los participantes de acuerdo a su peso y tipo de dieta. **A)** Phyla y **B)** géneros bacterianos de mayor abundancia entre los grupos de estudio. **C)** El grupo núcleo del microbioma entre especies consistió en ASVs con una prevalencia del 80%. El diagrama de Venn muestra el número de ASVs en cada núcleo. **D)** Número de ASV únicos (punto), compartidos (puntos conectados) y totales (barras horizontales) entre los grupos de estudio.

### c) Diversidad alfa

#### 1) Índice de Shannon

Los resultados obtenidos en el índice de Shannon presentaron una distribución normal (Shapiro-Wilk:  $p = 0.383$ ) y homocedasticidad (Bartlett test:  $p = 0.603$ ). Se crearon diversos modelos de efectos lineales mixtos con la inclusión de las variables de interés:

##### A) Modelo completo

Los resultados del modelo completo demostraron que la variable “peso” no influye en la diversidad de Shannon. En este modelo que consideró ambas

variables de estudio, se observó que la variable “Participante” es importante en el modelo (Estimado -0.307,  $p = 0.022$ ).

```

Formula: Shannon ~ Dieta * Peso + (1 | Participante)
Data: alpha_comp

      AIC      BIC   logLik deviance df.resid
  61.5    71.6   -24.7    49.5      34

Scaled residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.7839 -0.4685 -0.0573  0.5541  1.3051

Random effects:
 Groups           Name          Variance Std.Dev.
 Participante (Intercept) 0.22941  0.4790
 Residual                0.07612  0.2759
Number of obs: 40, groups: Participante, 20

Fixed effects:
              Estimate Std. Error      df t value Pr(>|t|)
(Intercept)      3.7493     0.1748 25.5791  21.450  <2e-16 ***
DietaNormal      -0.3066     0.1234 20.0000  -2.485   0.0219 *
PesoSaludable     0.1137     0.2472 25.5791   0.460   0.6493
DietaNormal:PesoSaludable 0.2708     0.1745 20.0000   1.552   0.1364

```

### ***B) Modelo parcial***

Debido a que en el modelo anterior la variable “peso” no influyó en el índice de Shannon, en el modelo parcial se eliminó. Al eliminar esta variable del modelo se determinó que, si se considera un  $p < 0.05$  como significativo, la dieta no tiene influencia en los resultados del índice de Shannon (Estimado -0.171,  $p = 0.079$ ).

```

Formula: Shannon ~ Dieta + (1 | Participante)
Data: alpha_comp

      AIC      BIC  logLik deviance df.resid
  60.9    67.7   -26.4    52.9      36

Scaled residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.85518 -0.40835  0.03289  0.53140  1.33555

Random effects:
 Groups      Name      Variance Std.Dev.
 Participante (Intercept) 0.24034  0.4902
 Residual              0.08529  0.2920
Number of obs: 40, groups: Participante, 20

Fixed effects:
              Estimate Std. Error      df t value Pr(>|t|)
(Intercept)  3.80621    0.12760  25.89391  29.829  <2e-16 ***
DietaNormal -0.17121    0.09235  20.00000  -1.854  0.0786 .
---

```

### C) Modelo nulo

En este modelo se eliminaron las variables de efectos fijos (dieta y peso) y únicamente se consideró a los participantes (variable aleatoria).

```

Formula: Shannon ~ (1 | Participante)
Data: alpha_comp

      AIC      BIC  logLik deviance df.resid
  62.1    67.1   -28.0    56.1      37

Scaled residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-2.02919 -0.26035  0.01845  0.45409  1.48858

Random effects:
 Groups      Name      Variance Std.Dev.
 Participante (Intercept) 0.23302  0.4827
 Residual              0.09995  0.3161
Number of obs: 40, groups: Participante, 20

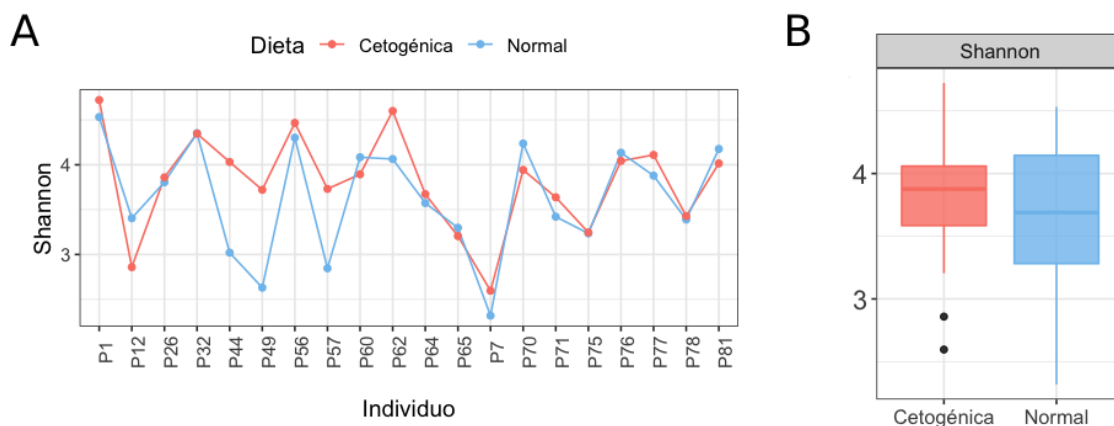
Fixed effects:
              Estimate Std. Error      df t value Pr(>|t|)
(Intercept)  3.721      0.119  20.000  31.28  <2e-16 ***

```

La comparación de los tres modelos anteriores reveló que el modelo parcial, en donde sólo se considera la dieta como variable independiente, posee el valor más bajo de AIC, indicando que incluir la variable “peso” no mejora el ajuste del modelo. Sin embargo, no existen diferencias entre los modelos (si se considera  $p < 0.05$  como valor de rechazo de la hipótesis nula), por lo tanto, la

dieta o el peso del participante no influyen en la diversidad de su microbiota (índice de Shannon).

En todos los modelos se observó que la varianza en los datos se explica en gran medida por el participante (0.253), por lo tanto, las variaciones intraespecíficas (Fig. 11A) tienen un mayor efecto en la diversidad de la microbiota del intestino, mientras que la dieta o el peso no tienen influencia en la diversidad de esta microcomunidad (Fig. 12B).



**Figura 11.** Relación entre la dieta con cambios en la diversidad de la microbiota del intestino (índice de Shannon). **A)** Variabilidad individual y **B)** Resultado global.

## 2) Índice de ASVs observados

Los resultados obtenidos en el índice de ASVs observados presentaron una distribución normal (Shapiro-Wilk:  $p=0.383$ ) y homocedasticidad (Bartlett test:  $p=0.603$ ). Se creó un modelo de efectos lineales mixtos que incluyera la relación entre la dieta (normal/ cetogénica) y el peso (saludable/obeso). Como efectos fijos, se tomaron en cuenta las variables dieta y peso (con término de interacción) y como efectos aleatorios, se consideraron a los individuos.

### **A) Modelo completo**



Los resultados del modelo completo demostraron que ninguna de las variables del estudio (dieta y peso) influye en el número de ASVs observados. La variable “participante” explica en mayor medida la varianza del modelo (3791).

```
Formula: Observados ~ Dieta * Peso + (1 | Participante)
Data: alpha_comp

      AIC      BIC    logLik deviance df.resid
433.0    443.1   -210.5    421.0      34

Scaled residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.77192 -0.52150 -0.06772  0.45281  1.81113

Random effects:
Groups      Name      Variance Std.Dev.
Participante (Intercept) 3791    61.57
Residual          581    24.10
Number of obs: 40, groups: Participante, 20

Fixed effects:
              Estimate Std. Error    df t value Pr(>|t|)
(Intercept)      240.90      20.91  22.83  11.521 5.44e-11 ***
DietaNormal       -13.90       10.78  20.00  -1.289   0.212
PesoSaludable      25.80      29.57  22.83   0.872   0.392
DietaNormal:PesoSaludable  4.00      15.24  20.00   0.262   0.796
```

## B) Modelo nulo

Debido a que las variables “dieta” y “peso” no fueron significativas en el modelo anterior, éstas se eliminaron del modelo y únicamente se consideró a los participantes (variable aleatoria).

```
Formula: Observados ~ (1 | Participante)
Data: alpha_comp

      AIC      BIC    logLik deviance df.resid
430.2    435.3   -212.1    424.2      37

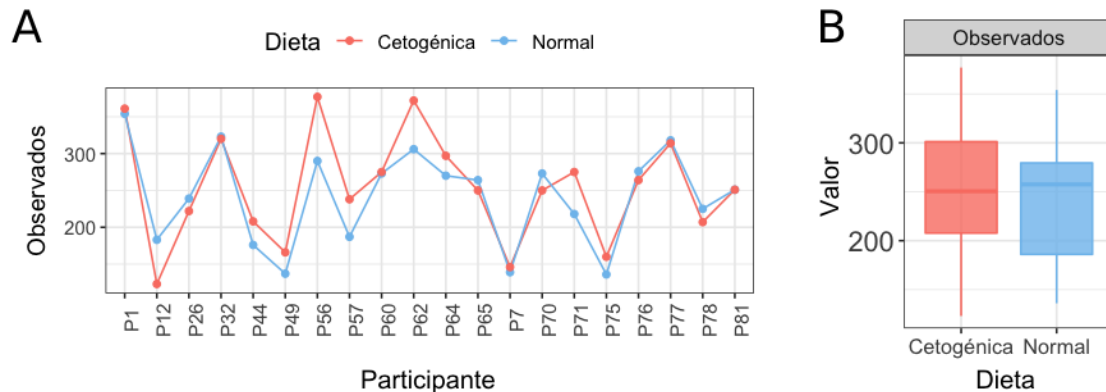
Scaled residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.4569 -0.4278  0.1215  0.3009  1.9573

Random effects:
Groups      Name      Variance Std.Dev.
Participante (Intercept) 3947.9    62.83
Residual          653.8    25.57
Number of obs: 40, groups: Participante, 20

Fixed effects:
              Estimate Std. Error    df t value Pr(>|t|)
(Intercept)      247.85      14.62  20.00  16.95 2.47e-13 ***
```

La comparación entre modelos mostró que incluir las variables “dieta” y “peso” no mejoran el modelo y no existen diferencias significativas entre el modelo completo y el nulo. Incluso el valor de AIC fue menor en el modelo nulo.

La variación natural entre los participantes (Fig. 12A) es más importante en las diferencias del número de ASVs observados. La dieta y el peso de los participantes no influyeron en la riqueza de especies de la microbiota del intestino.



**Figura 12.** Relación entre la dieta con cambios en la riqueza de la microbiota del intestino (ASVs observados). **A)** Variabilidad individual y **B)** resultado global.

### 3) Índice diversidad filogenética (PD)

Los resultados obtenidos en el índice de diversidad filogenética presentaron una distribución normal (Shapiro-Wilk:  $p=0.173$ ) y homocedasticidad (Bartlett test:  $p=0.858$ ). Se creó un modelo de efectos lineales mixtos que incluyera la relación entre la dieta (normal/ cetogénica) y el peso (saludable/obeso). Como efectos fijos, se tomaron en cuenta las variables dieta y peso (con término de interacción) y como efectos aleatorios, se consideraron a los participantes.

#### **A) Modelo completo**

Al considerar la interacción de las variables de estudio, los resultados del modelo completo demostraron que ninguna de las variables del estudio (dieta y peso) influye en el número de ASVs observados. La variable “participante” explica en mayor medida la varianza del modelo (30.274).

```

Formula: PD ~ Dieta * Peso + (1 | Participante)
Data: alpha_comp

      AIC      BIC  logLik deviance df.resid
233.7    243.9   -110.9    221.7      34

Scaled residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.5606 -0.5597  0.0810  0.5302  1.8516

Random effects:
 Groups      Name      Variance Std.Dev.
Participante (Intercept) 30.274   5.502
Residual              3.495   1.870
Number of obs: 40, groups: Participante, 20

Fixed effects:
              Estimate Std. Error    df t value Pr(>|t|)
(Intercept)    25.5796    1.8376 22.1766  13.920 1.93e-12 ***
DietaNormal    -0.7519    0.8361 20.0000  -0.899   0.379
PesoSaludable   2.6910    2.5988 22.1766   1.035   0.312
DietaNormal:PesoSaludable -0.6616    1.1824 20.0000  -0.559   0.582

```

Debido a que la interacción entre las variables no fue significativa, ésta se eliminó del modelo. En este nuevo modelo, ni el peso ni la dieta tuvieron valores significativos, sin embargo, la variable dieta está próxima al valor de significancia, por lo que en el modelo parcial se mantuvo dicha variable.

```

Formula: PD ~ Dieta + Peso + (1 | Participante)
Data: alpha_comp

      AIC      BIC  logLik deviance df.resid
232.0    240.5   -111.0    222.0      35

Scaled residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.63969 -0.49283  0.07972  0.45351  1.92798

Random effects:
 Groups      Name      Variance Std.Dev.
Participante (Intercept) 30.25   5.500
Residual              3.55   1.884
Number of obs: 40, groups: Participante, 20

Fixed effects:
              Estimate Std. Error    df t value Pr(>|t|)
(Intercept)    25.7450    1.8141 21.1078  14.192 2.87e-12 ***
DietaNormal    -1.0827    0.5958 20.0000  -1.817   0.0842 .
PesoSaludable   2.3603    2.5307 20.0000   0.933   0.3621

```

### ***B) Modelo parcial***

En este modelo se consideró la dieta como variable independiente y la variable “participante” como variable de efectos aleatorios. En este modelo, la variable

“dieta” mantiene los mismos valores que en el modelo anterior pero la varianza explicada por el participante aumenta (31.64).

```
Formula: PD ~ Dieta + (1 | Participante)
Data: alpha_comp

      AIC      BIC   logLik deviance df.resid
  230.9    237.7   -111.4    222.9      36

Scaled residuals:
      Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.66368 -0.48234  0.04998  0.47905  1.95323

Random effects:
 Groups      Name      Variance Std.Dev.
 Participante (Intercept) 31.64    5.625
 Residual              3.55     1.884
Number of obs: 40, groups: Participante, 20

Fixed effects:
              Estimate Std. Error      df t value Pr(>|t|)
(Intercept)  26.9251     1.3264  22.1188  20.299 8.64e-16 ***
DietaNormal  -1.0827     0.5958  20.0000  -1.817  0.0842 .
```

### C) Modelo nulo

En este modelo únicamente se consideró a los participantes (variable aleatoria).

```
Formula: PD ~ (1 | Participante)
Data: alpha_comp

      AIC      BIC   logLik deviance df.resid
   232     237    -113     226      37

Scaled residuals:
      Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.63905 -0.39346  0.02003  0.47063  2.10904

Random effects:
 Groups      Name      Variance Std.Dev.
 Participante (Intercept) 31.346    5.599
 Residual              4.136     2.034
Number of obs: 40, groups: Participante, 20

Fixed effects:
              Estimate Std. Error      df t value Pr(>|t|)
(Intercept)  26.384     1.293  20.000  20.41 7.31e-15 ***
```

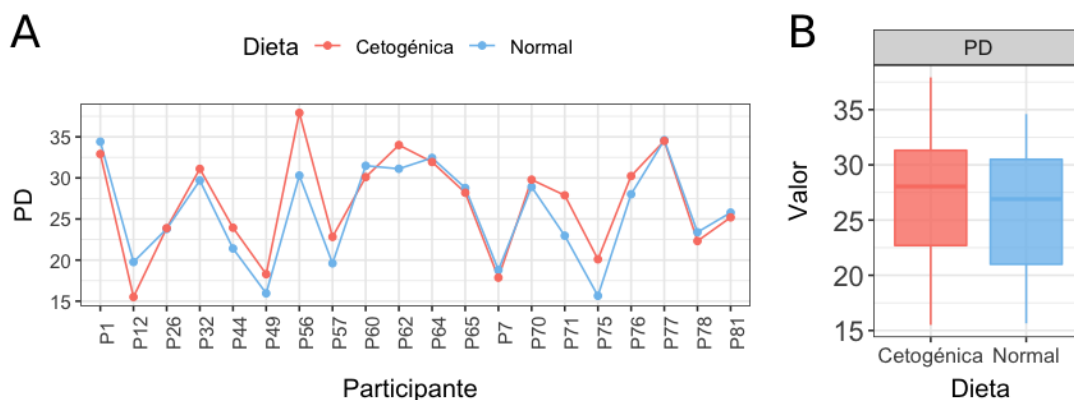
La comparación entre modelos demostró que el modelo que solamente incluye la variable “dieta” posee un AIC más bajo y se considera el mejor modelo. Sin embargo, si se considera un valor  $p < 0.05$  como valor de significancia, no se

encontraron diferencias entre el modelo que incluye la dieta como variable predictora y el modelo que no incluye a esta variable (nulo). Por lo tanto, incluir las variables “dieta” y “peso” no mejora el modelo.

Models:  
 null.pd: PD ~ (1 | Participante)  
 par.pd: PD ~ Dieta + (1 | Participante)  
 full.pd: PD ~ Dieta + Peso + (1 | Participante)

|         | npar | AIC    | BIC    | logLik  | deviance | Chisq  | Df | Pr(>Chisq) |
|---------|------|--------|--------|---------|----------|--------|----|------------|
| null.pd | 3    | 231.95 | 237.02 | -112.98 | 225.95   |        |    |            |
| par.pd  | 4    | 230.90 | 237.65 | -111.45 | 222.90   | 3.0562 | 1  | 0.08043 .  |
| full.pd | 5    | 232.04 | 240.49 | -111.02 | 222.04   | 0.8515 | 1  | 0.35613    |

La variación natural entre los participantes posee una influencia mayor en la microbiota. La dieta y el peso de los participantes no influyeron en la diversidad filogenética de la microbiota del intestino.



**Figura 13.** Relación entre la dieta con cambios en la diversidad filogenética (PD) de la microbiota del intestino. **A)** Variabilidad individual y **B)** resultado global.

## **DISCUSIÓN**

Los regímenes nutricionales para la pérdida de peso corporal, basados en baja cantidad de carbohidratos, han aumentado su uso en las últimas cuatro décadas. Algunos estudios, incluyendo metaanálisis, han concluido que había mayor pérdida de peso en dietas con menor ingesta de carbohidratos en comparación con una dieta baja en grasa, esto con pérdida de peso acelerada y manteniéndola hasta por un año (Nordmann et al., 2006).

En el presente estudio realizado en población obesa y con peso normal en el cual se administró una dieta cetogénica sin restricción calórica se encontró una reducción de peso significativa en el grupo con obesidad, no obstante dicha pérdida fue secundaria a disminución de músculo estriado, lo cual contrasta con otros estudios previos (Bazzano et al., 2014; Moreno et al., 2014), en donde la pérdida de peso fue secundaria a pérdida de tejido graso.

En un estudio realizado por Bazzano et al. (2014) el tiempo de intervención con dieta cetogénica hipocalórica fue por 2 semanas, por lo que podría explicar la pérdida de peso acelerada sin pérdida de músculo, aunque es importante resaltar que en pacientes con obesidad se pretende lograr un mayor apego al régimen con resultados a mediano y largo plazo. Asimismo, es necesario contar con una evaluación de composición corporal completa de los pacientes, ya que una pérdida de peso corporal se puede interpretar erróneamente sino conocemos a expensas de qué componente es la pérdida de peso.

Por otro lado, algunos estudios tanto en pacientes obesos como en personas saludables, además de la pérdida de peso, han encontrado un aumento significativo en los niveles séricos de lipoproteínas de baja densidad (Johnstone et al., 2008; Burén et al., 2021; Urbain et al., 2017). Dicho hallazgo no ha sido consistente en todos los estudios (Choi et al., 2018; Bazzano et al., 2014). En la presente investigación se encontró una disminución significativa en la concentración de triglicéridos en el grupo con obesidad, sin aumento en el nivel de colesterol total, lo cual se explica por la ingesta disminuida de carbohidratos.

Algunos ensayos clínicos realizados en población sin obesidad han obtenido resultados heterogéneos. Sjodin et al. (2020) encontró una reducción significativa de la actividad física, sin alteraciones metabólicas. En contraste, Urbin et al. (2017) no encontró cambios significativos en actividad física; sin embargo, sí hubo un aumento en las concentraciones séricas de lípidos.

Respecto a la investigación de la microbiota intestinal los estudios existentes son heterogéneos ya que depende en gran medida de la dieta regional, por lo que los hallazgos difícilmente pueden ser extrapolados a una población distinta.

En términos generales uno de los parámetros más utilizados es la relación entre los dos *phyla* predominantes Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) (Stojanov et al., 2020). No obstante, la relación menor a 1 reportada en población con peso normal (Koliada et al., 2017) se ha observado también en pacientes con obesidad en poblaciones similares (Vaiserman et al., 2020; Castaner et al., 2018).

Un estudio realizado en menores de edad en la población mexicana no encontró hallazgos concluyentes en cuanto a predominio de *phyla* en correlación con el IMC. Interesantemente el *phylum* predominante fue Firmicutes en menores con sobrepeso y obesidad el cual se encontró en una proporción  $\geq 50\%$  y ligeramente menor en niños con peso normal sin ser estadísticamente significativo (Murugesan et al., 2015). Por el contrario en nuestro estudio el *phylum* predominante fue Bacteroidetes y mostró una relación F/B  $< 1$  en ambos grupos. Cabe señalar que aunque ambos estudios son en población mexicana, el grupo etario y la región son distintos. Con relación a la especie *Akkermansia muciniphila* se ha asociado a un tipo de microbiota saludable, con pacientes que tienen mejoría en la sensibilidad a la insulina, entre otras, dicha especie no fue observada en ninguno de nuestros grupos de estudio.



Los parámetros que pueden explicar con mejor claridad una microbiota saludable son los tipos de diversidad, términos adaptados de ecología (Walters & Martiny, 2020) dónde la diversidad alfa y beta nos han ayudado a caracterizar y comprender mejor la comunidad de bacterias intestinales. En la presente investigación se analizó la diversidad alfa basándose en la observación total de especies (ASV), índice de Shannon e índice de diversidad filogenético (PD), para los cuales se crearon modelos de regresión, incluyendo variables como el tipo de dieta y peso de los participantes. No se encontraron hallazgos significativos más allá de la variabilidad individual, esto se suma a la serie de trabajos en donde regímenes dietéticos parecidos en población distinta no muestran resultados similares, dicha variabilidad y heterogeneidad de los estudios puede corresponder a la predisposición genética de los individuos a desarrollar ciertos cambios, además entendiendo que la microbiota intestinal forma parte de una entidad más compleja conocida como el eje cerebro-intestino-microbiota en el que intervienen factores adicionales a la dieta, tales como cambios hormonales, estado de ánimo y situación de estrés (Asadi et al., 2022).

Aunque en la presente investigación el tipo de muestreo fue por conveniencia, cabe destacar que se obtuvieron resultados significativos en algunos parámetros principalmente el peso corporal. Es indispensable en estudios posteriores contar con una muestra representativa con base en la prevalencia de obesidad en población adulta. Conviene subrayar que la presente investigación es pionera en esta región del país por lo que abre una puerta a investigaciones futuras.

**CAPÍTULO V**  
**CONCLUSIONES**

La dieta cetogénica aún sin restricción calórica conlleva a pérdida de peso corporal significativa, no obstante, dicha pérdida puede ser secundaria a disminución de músculo esquelético, por tanto, debe recomendarse y vigilarse por un profesional de salud.

Debido a que en el presente estudio se encontró una disminución significativa de músculo esquelético no se recomendaría dicha estrategia en pacientes con obesidad sarcopénica y tampoco en adultos mayores.

La dieta cetogénica no se asoció a desarrollo de dislipidemia, por el contrario, se encontró una reducción significativa de triglicéridos en los participantes con obesidad.

Los niveles de glucosa sérica se mantuvieron estables en ambos grupos, por lo que, esta dieta baja en carbohidratos no se recomendaría en pacientes con diabetes mellitus como parte del control metabólico o manejo nutricional.

La microbiota intestinal en ambos grupos previo al inicio de la intervención fue similar en cuanto a phyla y especies.

No hubo cambios significativos en la diversidad asociados al tipo de dieta; sin embargo, la tendencia es una disminución de diversidad por lo que al aumentar el número de participantes en el estudio pudieran obtenerse resultados significativos.



## REFERENCIAS

- Andersen, K. S., Kirkegaard, R. H., Karst, S. M., & Albertsen, M. (2018). ampvis2: An R package to analyse and visualise 16S rRNA amplicon data. *BioRxiv*, 10–11. <https://doi.org/10.1101/299537>
- Asadi, A., Shadab Mehr, N., Mohamadi, M. H., Shokri, F., Heidary, M., Sadeghifard, N., & Khoshnood, S. (2022). Obesity and gut–microbiota–brain axis: A narrative review. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(5), 1–11. <https://doi.org/10.1002/jcla.24420>
- Bä, F., Manchester, J. K., Semenkovich, C. F., & Gordon, J. I. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *PNAS*, 104(3), 979–984. [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0605374104](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0605374104)
- Barrett, E., Ross, R. P., O'Toole, P. W., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2012).  $\gamma$ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *Journal of Applied Microbiology*, 113(2), 411–417. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05344.x>
- Bazzano, L. A., Hu, T., Reynolds, K., Yao, L., Bunol, C., Liu, Y., Chen, C. S., Klag, M. J., Whelton, P. K., & He, J. (2014). RCT:저탄수 식이가 저지방 식이에 비해 BW,LDL,HDL,TG에 좋은 영향. 영향지수나 n수가 좋은편은 아님. Effects of low-carbohydrate and low-fat diets: A randomized trial. *Annals of Internal Medicine*, 161(5), 309–318. <https://doi.org/10.7326/M14-0180>.Effects
- Burén, J., Ericsson, M., Damasceno, N. R. T., & Sjödin, A. (2021). A ketogenic low-carbohydrate high-fat diet increases ldl cholesterol in healthy, young, normal-weight women: A randomized controlled feeding trial. *Nutrients*, 13(3), 1–12. <https://doi.org/10.3390/nu13030814>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583.

<https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>

- Canfora, E. E., Jocken, J. W., & Blaak, E. E. (2015). Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology*, 11(10), 577–591. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.128>
- Castaner, O., Goday, A., Park, Y. M., Lee, S. H., Magkos, F., Shiow, S. A. T. E., & Schröder, H. (2018). The gut microbiome profile in obesity: A systematic review. *International Journal of Endocrinology*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4095789>
- Chang, C., & Lin, H. (2016). Dysbiosis in gastrointestinal disorders. *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*, 30(1), 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.001>
- Choi, H. R., Kim, J., Lim, H., & Park, Y. K. (2018). Two-week exclusive supplementation of modified ketogenic nutrition drink reserves lean body mass and improves blood lipid profile in obese adults: A randomized clinical trial. *Nutrients*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/nu10121895>
- Christian Milani, Sabrina Duranti, Francesca Bottacini, B., Eoghan Casey, B., Francesca Turrone, Jennifer Mahony, B., Clara Belzer, S. D. P., Silvia Arboleya Montes, E., Leonardo Mancabelli, Gabriele Andrea Lugli, A., Juan Miguel Rodriguez, F., & Lars Bode, Willem de Vos, Miguel Gueimonde, Abelardo Margolles, Douwe van Sinderen, M. V. (2017). The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(4), 1–67. <https://bit.ly/2rxVSf9>
- Clarke, G., Stilling, R. M., Kennedy, P. J., Stanton, C., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2014). Minireview: Gut microbiota: The neglected endocrine organ. *Molecular Endocrinology*, 28(8), 1221–1238. <https://doi.org/10.1210/me.2014-1108>
- Conway, J. R., Lex, A., & Gehlenborg, N. (2017). UpSetR: An R package for the

- visualization of intersecting sets and their properties. *Bioinformatics*, 33(18), 2938–2940. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx364>
- Coppola, S., Avagliano, C., Calignano, A., & Berni Canani, R. (2021). The Protective Role of Butyrate against Obesity and Obesity-Related Diseases. *Molecules*, 26(3), 682. <https://doi.org/10.3390/molecules26030682>
- Cox, A. J., West, N. P., & Cripps, A. W. (2015). Obesity, inflammation, and the gut microbiota. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 3(3), 207–215. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(14\)70134-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(14)70134-2)
- Dao, M. C., & Clément, K. (2018). Gut microbiota and obesity: Concepts relevant to clinical care. In *European Journal of Internal Medicine* (Vol. 48, pp. 18–24). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2017.10.005>
- Davis, N. M., Proctor, D. M., Holmes, S. P., Relman, D. A., & Callahan, B. J. (2018). Simple statistical identification and removal of contaminant sequences in marker-gene and metagenomics data. *Microbiome*, 6(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0605-2>
- De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Goncalves, D., Vinera, J., Zitoun, C., Duchampt, A., Bäckhed, F., & Mithieux, G. (2014). Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*, 156(1–2), 84–96. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.016>
- del Campo-Moreno, R., Alarcón-Cavero, T., D'Auria, G., Delgado-Palacio, S., & Ferrer-Martínez, M. (2018). Microbiota en la salud humana: técnicas de caracterización y transferencia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 36(4), 241–245. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.02.007>
- Erlichman, J., Kerbey, A. L., & James, W. P. T. (2002). Physical activity and its impact on health outcomes. Paper 1: The impact of physical activity on cardiovascular disease and all-cause mortality: An historical perspective. *Obesity Reviews*, 3(4), 257–271. <https://doi.org/10.1046/j.1467-789X.2002.00077.x>

- Flores, R. (2012). Assessment of the human fecal microbiota. *Changes*, 29(6), 997–1003. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2012.02659.x>.Assessment
- Gerritsen, J., Smidt, H., Rijkers, G. T., & De Vos, W. M. (2011). Intestinal microbiota in human health and disease: The impact of probiotics. *Genes and Nutrition*, 6(3), 209–240. <https://doi.org/10.1007/s12263-011-0229-7>
- Gershuni, V. M., Yan, S. L., & Medici, V. (2018). Nutritional Ketosis for Weight Management and Reversal of Metabolic Syndrome. *Current Nutrition Reports*, 7(3), 97–106. <https://doi.org/10.1007/s13668-018-0235-0>
- Gomes, A. C., Hoffmann, C., & Mota, J. F. (2018). The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. *Gut Microbes*, 9(4), 308–325. <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1465157>
- Guh, D. P., Zhang, W., Bansback, N., Amarsi, Z., Birmingham, C. L., & Anis, A. H. (2009). The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: A systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*, 9, 1–20. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-9-88>
- Gutiérrez-Repiso, C., Hernández-García, C., García-Almeida, J. M., Bellido, D., Martín-Núñez, G. M., Sánchez-Alcoholado, L., Alcaide-Torres, J., Sajoux, I., Tinahones, F. J., & Moreno-Indias, I. (2019). Effect of Synbiotic Supplementation in a Very-Low-Calorie Ketogenic Diet on Weight Loss Achievement and Gut Microbiota: A Randomized Controlled Pilot Study. *Molecular Nutrition and Food Research*, 63(19). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201900167>
- Gutiérrez-Repiso, C., Molina-Vega, M., Bernal-López, M. R., Garrido-Sánchez, L., García-Almeida, J. M., Sajoux, I., Moreno-Indias, I., & Tinahones, F. J. (2021). Different weight loss intervention approaches reveal a lack of a common pattern of gut microbiota changes. *Journal of Personalized Medicine*, 11(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/jpm11020109>
- Hailee L. Wingfield, Smith-Ryan, A. E., Woessner, M. N., Melvin, M. N., Fultz, S.



- N., & Graff, R. M. (2014). Body composition assessment in overweight women: validation of air displacement plethysmography Hailee. *Clin Physiol Funct Imaging*, 34(1), 72–76. <https://doi.org/10.1126/science.1249098>.
- Halle, H. M. (1953). Coronary Heart-Disease and Physical Activity of Work. *The Lancet*, 262(6800), 1357. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(53\)91285-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(53)91285-9)
- Haslam, D. W., & James, W. P. T. (2005). Obesity. *Lancet*, 366(9492), 1197–1209. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67483-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67483-1)
- Johnstone, A. M., Horgan, G. W., Murison, S. D., Bremner, D. M., & Lobley, G. E. (2008). Effects of a high-protein ketogenic diet on hunger, appetite, and weight loss in obese men feeding ad libitum. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87(1), 44–55. <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.1.44>
- Kelly, T., Yang, W., Chen, C. S., Reynolds, K., & He, J. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International Journal of Obesity*, 32(9), 1431–1437. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.102>
- Kirkpatrick, S. I., Subar, A. F., Douglass, D., Zimmerman, T. P., Thompson, F. E., Kahle, L. L., George, S. M., Dodd, K. W., & Potischman, N. (2014). Performance of the Automated Self-Administered 24-hour Recall relative to a measure of true intakes and to an interviewer-administered 24-h recall. *American Journal of Clinical Nutrition*, 100(1), 233–240. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.083238>
- Kozich JJ, Westcott SL, Baxter NT, Highlander SK, Schloss PD. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Appl Environ Microbiol*. 2013 Sep;79(17):5112-20. doi: 10.1128/AEM.01043-13.
- Koliada, A., Syzenko, G., Moseiko, V., Budovska, L., Puchkov, K., Perederiy, V., Gavalko, Y., Dorofeyev, A., Romanenko, M., Tkach, S., Sineok, L., Lushchak, O., & Vaiserman, A. (2017). Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC*

- Microbiology*, 17(1), 4–9. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1027-1>
- Lau, L. H. S., & Wong, S. H. (2018). Microbiota, obesity and NAFLD. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1061, 111–125. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-8684-7\\_9](https://doi.org/10.1007/978-981-10-8684-7_9)
- Lavelle, A., & Hill, C. (2019). Gut Microbiome in Health and Disease: Emerging Diagnostic Opportunities. *Gastroenterology Clinics of North America*, 48(2), 221–235. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2019.02.003>
- Lindfeldt, M., Eng, A., Darban, H., Bjerkner, A., Zetterström, C. K., Allander, T., Andersson, B., Borenstein, E., Dahlin, M., & Prast-Nielsen, S. (2019). The ketogenic diet influences taxonomic and functional composition of the gut microbiota in children with severe epilepsy. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/s41522-018-0073-2>
- Ludwig, D. S., Willett, W. C., Volek, J. S., & Neuhausser, M. L. (2018). Dietary fat: From foe to friend? *Science*, 362(6416), 764–770. <https://doi.org/10.1126/science.aau2096>
- Ma, D., Wang, A. C., Parikh, I., Green, S. J., Hoffman, J. D., Chlipala, G., Murphy, M. P., Sokola, B. S., Bauer, B., Hartz, A. M. S., & Lin, A. L. (2018). Ketogenic diet enhances neurovascular function with altered gut microbiome in young healthy mice. *Scientific Reports*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25190-5>
- Macias, N., Alemán-mateo, H., Esparza-romero, J., & Valencia, M. E. (2007). *Body fat measurement by bioelectrical impedance and air displacement plethysmography : a cross-validation study to design bioelectrical impedance equations in Mexican adults*. 7, 1–7. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-6-18>
- Madden, A. M., & Smith, S. (2016). Body composition and morphological assessment of nutritional status in adults: A review of anthropometric variables. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 29(1), 7–25. <https://doi.org/10.1111/jhn.12278>

- Martínez, M. C., García Cedillo, I., & Estrada, B. D. (2016). Adherencia al tratamiento nutricional: intervención basada en entrevista motivacional y terapia breve centrada en soluciones. *Revista Mexicana de Trastornos Alimentarios*, 7(1), 32–39. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-15232016000100032](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-15232016000100032)
- Moreno, B., Bellido, D., Sajoux, I., Goday, A., Saavedra, D., Crujeiras, A. B., & Casanueva, F. F. (2014). Comparison of a very low-calorie-ketogenic diet with a standard low-calorie diet in the treatment of obesity. *Endocrine*, 47(3), 793–805. <https://doi.org/10.1007/s12020-014-0192-3>
- Morrison, D. J., & Preston, T. (2016). Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*, 7(3), 189–200. <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1134082>
- Murugesan, S., Ulloa-Martínez, M., Martínez-Rojano, H., Galván-Rodríguez, F. M., Miranda-Brito, C., Romano, M. C., Piña-Escobedo, A., Pizano-Zárate, M. L., Hoyo-Vadillo, C., & García-Mena, J. (2015). Study of the diversity and short-chain fatty acids production by the bacterial community in overweight and obese Mexican children. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 34(7), 1337–1346. <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2355-4>
- Muscogiuri, G., Barrea, L., Laudisio, D., Pugliese, G., Salzano, C., Savastano, S., & Colao, A. (2019). The management of very low-calorie ketogenic diet in obesity outpatient clinic: A practical guide. In *Journal of Translational Medicine* (Vol. 17, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12967-019-2104-z>
- Nordmann, A. J., Nordmann, A., Briel, M., Keller, U., Yancy, W. S., Brehm, B. J., & Bucher, H. C. (2006). Effects of Low-Carbohydrate vs Low-Fat Diets on Weight Loss and Cardiovascular Risk Factors. *Archives of Internal Medicine*,

166(3), 285. <https://doi.org/10.1001/archinte.166.3.285>

- Ortega, R. M., Perez-Rodrigo, C., & Lopez-Sobaler, A. M. (2015). Dietary assessment methods: Dietary records [Métodos de evaluación de la ingesta actual: Registro o diario dietético]. *Nutricion Hospitalaria*, 31, 38–45. <https://doi.org/10.14642/RENC.2015.21.sup1.5048>
- Ortega, Rosa M., Perez-Rodrigo, C., & Lopez-Sobaler, A. M. (2015). Métodos de evaluación de la ingesta actual: Registro o diario dietético. *Nutricion Hospitalaria*, 31, 38–45. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.sup3.8749>
- Pagès-Puigdemont, N., & Valverde-Merino, M. I. (2018). Métodos para medir la adherencia terapéutica. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 59(3), 163–172. <https://doi.org/10.30827/ars.v59i3.7387>
- Paoli, A., Rubini, A., Volek, J. S., & Grimaldi, K. A. (2013). Beyond weight loss: A review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets. *European Journal of Clinical Nutrition*, 67(8), 789–796. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2013.116>
- Paoli, Antonio, Mancin, L., Bianco, A., Thomas, E., Mota, J. F., & Piccini, F. (2019). Ketogenic diet and microbiota: Friends or enemies? *Genes*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/genes10070534>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), 590–596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Reddel, S., Putignani, L., & Del Chierico, F. (2019). The impact of low-FODMAPs, Gluten-free, and ketogenic diets on gut microbiota modulation in pathological conditions. *Nutrients*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/nu11020373>
- Rinninella, E., Cintoni, M., Raoul, P., Lopetuso, L. R., Scaldaferri, F., Pulcini, G., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). Food components and dietary habits: Keys for a healthy gut microbiota composition. *Nutrients*,

11(10), 1–23. <https://doi.org/10.3390/nu11102393>

- Rohr, M. W., Narasimhulu, C. A., Rudeski-Rohr, T. A., & Parthasarathy, S. (2020). Negative Effects of a High-Fat Diet on Intestinal Permeability: A Review. In *Advances in Nutrition* (Vol. 11, Issue 1, pp. 77–91). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz061>
- Russell, W. R., Gratz, S. W., Duncan, S. H., Holtrop, G., Ince, J., Scobbie, L., Duncan, G., Johnstone, A. M., Lopley, G. E., Wallace, R. J., Duthie, G. G., & Flint, H. J. (2011). High-protein, reduced-carbohydrate weight-loss diets promote metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health. *American Journal of Clinical Nutrition*, 93(5), 1062–1072. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.002188>
- Sjödén, A., Hellström, F., Sehlstedt, E., Svensson, M., & Burén, J. (2020). Effects of a ketogenic diet on muscle fatigue in healthy, young, normal-weight women: A randomized controlled feeding trial. *Nutrients*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/nu12040955>
- Stojanov, S., Berlec, A., & Štrukelj, B. (2020). The influence of probiotics on the firmicutes/bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. *Microorganisms*, 8(11), 1–16. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111715>
- Torres-Fuentes, C., Schellekens, H., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2017). The microbiota–gut–brain axis in obesity. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 2(10), 747–756. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(17\)30147-4](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(17)30147-4)
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., & Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444(7122), 1027–1031. <https://doi.org/10.1038/nature05414>
- Urbain, P., Strom, L., Morawski, L., Wehrle, A., Deibert, P., & Bertz, H. (2017).

- Impact of a 6-week non-energy-restricted ketogenic diet on physical fitness, body composition and biochemical parameters in healthy adults. *Nutrition and Metabolism*, 14(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12986-017-0175-5>
- Vaiserman, A., Romanenko, M., Piven, L., Moseiko, V., Lushchak, O., Kryzhanovska, N., Guryanov, V., & Koliada, A. (2020). Differences in the gut Firmicutes to Bacteroidetes ratio across age groups in healthy Ukrainian population. *BMC Microbiology*, 20(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01903-7>
- Walters, K. E., & Martiny, J. B. H. (2020). Alpha-, beta-, and gamma-diversity of bacteria varies across habitats. *PLoS ONE*, 15(9 September), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233872>
- Xie, G., Zhou, Q., Qiu, C. Z., Dai, W. K., Wang, H. P., Li, Y. H., Liao, J. X., Lu, X. G., Lin, S. F., Ye, J. H., Ma, Z. Y., & Wang, W. J. (2017). Ketogenic diet poses a significant effect on imbalanced gut microbiota in infants with refractory epilepsy. *World Journal of Gastroenterology*, 23(33), 6164–6171. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i33.6164>
- Yatsunenko, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Baldassano, R. N., Anokhin, A. P., Heath, A. C., Warner, B., Reeder, J., Kuczynski, J., Caporaso, J. G., Lozupone, C. A., Lauber, C., Clemente, J. C., Knights, D., ... Gordon, J. I. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486(7402), 222–227. <https://doi.org/10.1038/nature11053>
- Zhang, Y., Zhou, S., Zhou, Y., Yu, L., Zhang, L., & Wang, Y. (2018). Altered gut microbiome composition in children with refractory epilepsy after ketogenic diet. *Epilepsy Research*, 145, 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2018.06.015>

- R Core Team. (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.r-project.org/>
- Wickham, H. (2009). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis* (3 a. ed). Springer. <https://doi.org/0.1007/978-0-387-98141-3>

## ANEXOS

**Tabla 16. Operacionalización de variables**

| Nombre                            | Definición conceptual                                                                                                                                                             | Instrumento de Medición                                                                 | Tipo         | Escala de Medición | Unidades y/o Categoría de Medición                                           | Análisis Estadístico                          |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| <b>INDEPENDIENTES</b>             |                                                                                                                                                                                   |                                                                                         |              |                    |                                                                              |                                               |
| Edad                              | Tiempo transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo hasta el momento concreto                                                                                                  | Referido por interrogatorio                                                             | Cuantitativa | Discreta           | Años cumplidos<br>18-60 años cumplidos                                       | Estadística descriptiva                       |
| Sexo                              | Condición orgánica que distingue al macho de la hembra dentro de una misma especie                                                                                                | Referido por interrogatorio                                                             | Cualitativa  | Dicotómica         | Mujer<br>Hombre                                                              | Estadística descriptiva                       |
| <b>Dietéticos</b>                 |                                                                                                                                                                                   |                                                                                         |              |                    |                                                                              |                                               |
| Dieta cetogénica                  | Tipo de alimentación alta en grasa y baja en carbohidratos Respecto a las calorías totales ingeridas                                                                              | Porcentaje de macronutrientes<br>Carbohidratos $\leq 5\%$<br>Grasa 70%<br>Proteínas 25% | Cualitativa  | Dicotómica         | Si<br>No                                                                     | $\chi^2$                                      |
| Lípidos                           | Grasas presentes en los alimentos especialmente en productos de origen animal. Búsqueda MeSH "Dietary Fats"                                                                       | Recordatorio de 24 horas<br>(R M Ortega et al., 2015)                                   | Cuantitativa | Continua           | Gramo (g)<br>Proporción hasta 70%                                            | Comparación dos proporciones<br>SPSS          |
| Proteínas                         | Proteína obtenida de los alimentos. Fuente principal de aminoácidos esenciales. Búsqueda MeSH "Dietary protein"                                                                   | Recordatorio de 24 horas                                                                | Cuantitativa | Continua           | Gramo (g)<br>Hasta 25%                                                       | Comparación dos proporciones<br>SPSS          |
| Hidratos de carbono (HCO)         | Hidratos de carbono obtenidos de los alimentos, engloba azúcares digeribles, almidones y celulosa no digerible. Principal fuente de energía. Búsqueda MeSH "Dietary carbohydrate" | Recordatorio de 24 horas                                                                | Cuantitativa | Continua           | Gramo (g)<br>Hasta 5%                                                        | Comparación dos proporciones<br>SPSS          |
| Kcal                              | Cantidad de energía consumida durante el día ingerida o por vía parenteral. Búsqueda MeSH "caloric intake"                                                                        | Recordatorio de 24 horas                                                                | Cuantitativa | Continua           | Kcal                                                                         | Comparación de medias<br>SPSS                 |
| Apego a la dieta                  | Cooperación voluntaria del participante en la ingesta del plan de alimentación diseñado de acuerdo con su metabolismo basal. (Kirkpatrick et al., 2014)                           | Recordatorio de 24 horas                                                                | Cuantitativa | Ordinal            | 1=Adecuado (5% ingesta HCO)<br>2 =Regular (5%-20%)<br>3=Mal apego (>20% HCO) | ANOVA<br>SPSS                                 |
| Actividad física                  | Actividad física regular con el objetivo de mejorar o mantener el estado físico. MeSH "physical activity"                                                                         | Referido por interrogatorio                                                             | Cualitativa  | Dicotómica         | 1 =Leve (<3 días/semana)<br>2=Moderado (3-5 días/semana)                     | Asociación de variables categóricas<br>SPSS   |
| <b>DEPENDIENTES</b>               |                                                                                                                                                                                   |                                                                                         |              |                    |                                                                              |                                               |
| Composición microbiota intestinal | Número de UFC/log de los phylum presentes                                                                                                                                         | Amplificación por PCR<br>Secuenciación rRNA 16S bacteriano                              | Cuantitativa | Continua           | UFC/Log                                                                      | Programa Micca (Microbial Community Analysis) |



|                                                          |                                                                                                                                              |                                                                                                      |              |          |                   |                                   |
|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|----------|-------------------|-----------------------------------|
| Diversidad alfa microbiota intestinal                    | Biodiversidad dentro de un nicho ecológico específico, iniciando con riqueza que se refiere al número de taxones en el nicho. (Flores, 2012) | Índice de Shannon (Shannon & Weaver, 1949) Fórmula...                                                | cuantitativa | Continua | bits/ind.         | Qiime v 1.9.1                     |
| <b>Antropométricas</b>                                   |                                                                                                                                              |                                                                                                      |              |          |                   |                                   |
| Peso                                                     | Cantidad de masa, volumen o peso de un individuo expresado en libras o kilogramos. Búsqueda MeSH "Body weight"                               | Mediciones antropométricas                                                                           | Cuantitativa | Continua | Kg                | Comparación de medias SPSS        |
| IMC                                                      | Indicador de la densidad corporal determinada por la relación entre peso y la altura corporal. MeSH "Body Mass Index", 1968                  | Mediciones Antropométricas mediante la siguiente fórmula peso (kg)/Talla (m) <sup>2</sup> (WHO,2020) | Cuantitativa | continua | Kg/m <sup>2</sup> | Comparación de medias SPSS        |
| Circunferencia de cintura                                | Medición a nivel del abdomen, por encima de la cresta iliaca, se toma posterior a exhalación. MeSH "Waist circumference" 2009                | Medidas antropométricas                                                                              | Cuantitativa | continua | Cm                | Comparación de medias SPSS        |
| <b>Composición corporal mediante bioimpedancia, SECA</b> |                                                                                                                                              |                                                                                                      |              |          |                   |                                   |
| Agua corporal                                            | Suma del agua intra y extracelular                                                                                                           | SECA®                                                                                                | Cuantitativa | continua | Porcentaje (%)    | Comparación dos proporciones SPSS |
| Masa Grasa                                               | Cantidad de masa grasa, expresada en kilogramos                                                                                              | SECA®                                                                                                | Cuantitativa | continua | Kilogramos        | Comparación de medias SPSS        |
| Músculo esquelético                                      | Cantidad de masa de músculo estriado                                                                                                         | SECA®                                                                                                | Cuantitativa | continua | Kilogramos        | Comparación de medias SPSS        |
| <b>Bioquímico</b>                                        |                                                                                                                                              |                                                                                                      |              |          |                   |                                   |
| b-hidroxibutirato                                        | Es un cuerpo cetónico producido en el hígado como subproducto del metabolismo de las grasas                                                  | Mediante técnica de ELISA                                                                            | Cuantitativo | continuo | mM                | Comparación de medias SPSS        |
| Glucosa sérica                                           | Cantidad de glucosa en una muestra sanguínea                                                                                                 | Técnicas colorimétricas automatizadas Mindray B-200.                                                 | Cuantitativo | continuo | mg/dL             | Comparación de medias SPSS        |
| Colesterol HDL                                           | Colesterol de Lipoproteínas de alta densidad, transportan colesterol de los tejidos al hígado.                                               | Técnicas colorimétricas automatizadas                                                                | Cuantitativo | continuo | mg/dL             | Comparación de medias SPSS        |
| Colesterol LDL                                           | Lipoproteínas de baja densidad                                                                                                               | Técnicas colorimétricas automatizadas                                                                | Cuantitativo | continuo | mg/dL             | Comparación de medias SPSS        |
| Colesterol Total                                         | Colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad, producidas en el hígado y transportan triglicéridos y colesterol a los tejidos             | Técnicas colorimétricas automatizadas                                                                | Cuantitativo | continuo | mg/dL             | Comparación de medias SPSS        |
| Triglicéridos                                            | Éster derivado del glicerol. Principales constituyentes de la grasa corporal de los seres humanos                                            | Técnicas colorimétricas automatizadas                                                                | Cuantitativo | continuo | mg/dL             | Comparación de medias SPSS        |

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE MEDICINA Y PSICOLOGÍA**  
**MAESTRÍA CIENCIAS MEDICAS**

**ANEXO 1. RECOLECCIÓN DE DATOS**

**DATOS GENERALES**

FOLIO:

NOMBRE:

FECHA:

EDAD:

FECHA DE NACIMIENTO:

ESCOLARIDAD:

DOMICILIO:

OCUPACIÓN:

NO. TELEFONO:

ESTADO CIVIL:

E-MAIL:

**ANTECEDENTES PERSONALES (MARQUE CON “X” DONDE CORRESPONDA)**

| Marque con una “X” si cuenta con alguno de los siguientes antecedentes | <b>SI</b> | <b>NO</b> |
|------------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|
| ¿Fuma?                                                                 |           |           |
| ¿Toma Alcohol?                                                         |           |           |

|                                                                                                                     |           |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|
| ¿Usa drogas como cocaína, marihuana, otras?                                                                         |           |           |
| ¿Padece Diabetes?                                                                                                   |           |           |
| ¿Padece Hipertensión Arterial (Presión alta)?                                                                       |           |           |
| ¿Ha tenido cáncer anteriormente?                                                                                    |           |           |
| ¿Padece enfermedades de la tiroides?                                                                                |           |           |
| ¿Padece Artritis Reumatoide, Lupus Eritematoso, Fibromialgia?                                                       |           |           |
| ¿Padece epilepsia, crisis convulsivas o enfermedades psiquiátricas como depresión, esquizofrenia?                   |           |           |
| ¿Padece VIH/SIDA?                                                                                                   |           |           |
| ¿Ha sido sometido a cirugía bariátrica para reducción de peso?                                                      |           |           |
| ¿Padece enfermedad por reflujo gastroesofágico?                                                                     |           |           |
| ¿Padece pancreatitis crónica?                                                                                       |           |           |
| ¿Padece Enfermedad Inflamatoria intestinal como Colitis Ulcerativa Crónica Idiopática (CUCI) o Enfermedad de Crohn? |           |           |
| ¿Padece Síndrome de Intestino Irritable (Colon irritable o colitis nerviosa)?                                       |           |           |
| ¿Cirrosis Hepática?                                                                                                 |           |           |
| ¿Enfermedad Celiaca?                                                                                                |           |           |
| ¿Hepatitis Autoinmune?                                                                                              |           |           |
| ¿Estreñimiento?                                                                                                     |           |           |
| ¿Tiene menos de 3 evacuaciones por semana?                                                                          |           |           |
| ¿Usa medicamentos para poder evacuar(hacer del baño)?                                                               |           |           |
| ¿Cuáles?                                                                                                            |           |           |
| <b>¿Ha usado los siguientes medicamentos en los últimos 3 meses?</b>                                                |           |           |
|                                                                                                                     | <b>SI</b> | <b>NO</b> |
| Probióticos                                                                                                         |           |           |
| Antibióticos                                                                                                        |           |           |
| ¿Cuáles?                                                                                                            |           |           |
| Omeprazol, pantoprazol, esomeprazol, deslansoprazol o medicamento similar                                           |           |           |
| ¿Por cuál motivo? _____                                                                                             |           |           |
| ¿Tuvo COVID-19 en los últimos 3 meses?                                                                              |           |           |
| <b>En caso de ser mujer en edad reproductiva:</b>                                                                   |           |           |
| ¿Se encuentra embarazada?                                                                                           |           |           |
| ¿Desea embarazarse en los siguientes meses?                                                                         |           |           |
| ¿Usa método anticonceptivo?                                                                                         |           |           |
| ¿Cuál?                                                                                                              |           |           |
| ¿Practica algún tipo de deporte o ejercicio?                                                                        |           |           |
| - ¿Cuántas horas por semana? _____                                                                                  |           |           |
| ACTUALMENTE SE ENCUENTRA BAJO ALGUN REGIMEN NUTRICIONAL COMO:                                                       | <b>SI</b> | <b>NO</b> |
| Dieta libre de gluten                                                                                               |           |           |
| Ayuno intermitente                                                                                                  |           |           |

|                                                   |  |  |
|---------------------------------------------------|--|--|
| Dieta vegetariana, ovolácteo- vegetariana, vegana |  |  |
|---------------------------------------------------|--|--|

DATOS LLENADOS POR ENCUESTADOR:

PESO: \_\_\_\_\_

TALLA: \_\_\_\_\_

IMC: \_\_\_\_\_

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE MEDICINA Y PSICOLOGÍA**  
**MAESTRÍA CIENCIAS MEDICAS**

**ANEXO 2. Carta de consentimiento informado**

Estimado(a):

El presente documento es una invitación para participar en un proyecto de investigación, el cual ha sido aprobado por el comité de Bioética de la Facultad de Medicina y Psicología de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). El título es el siguiente **“Cambios en la composición de la microbiota intestinal, composición corporal y perfil de lípidos, posterior a un mes de dieta cetogénica isocalórica, en pacientes con obesidad y sujetos no obesos, en población de Tijuana, BC.”**, se realizará dentro de las instalaciones de la Facultad de Medicina y Psicología, UABC, a cargo de Blanca Jazmin Franquez Flores, estudiante de posgrado, para obtención de grado Maestría en Ciencias Médicas. La información personal que usted como participante nos proporcione y la obtenida a través del estudio, así como el uso de esta para publicación de uno o varios artículos científicos, se realizará con estricta confidencialidad y de conformidad con las leyes locales, estatales y federales de la Ley General de Salud y de los Artículos 20 al 27

del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud. Este proceso se conoce como consentimiento informado siéntase en absoluta libertad de aclarar todas sus dudas, una vez que haya comprendido en que consiste el estudio y si desea participar, se le pedirá que firme el presente formato.

### **Justificación del estudio:**

La dieta cetogénica o dieta keto, que consiste en consumir pocos carbohidratos como tortilla, pan, pastas, cereales y mayor consumo de carne y grasa; se ha vuelto popular en los últimos años, para el control de peso corporal y, frecuentemente, se realiza de forma no supervisada por un profesional de la salud; existe poca información sobre los efectos que este tipo de dieta puede tener tanto en personas con obesidad como en aquellas que mantienen peso normal. Con la información obtenida de su colaboración en el estudio, será posible tomar una mejor decisión ya sea recomendar o evitar esta dieta.

1. El objetivo del estudio es evaluar el efecto de un mes de dieta cetogénica(keto), para lo cual se realizarán pruebas en sangre y heces fecales, antes y después de un mes de dieta, así como toma de peso, talla y circunferencia abdominal de forma semanal.
2. En la primer visita con tiempo estimado de 60 minutos, se realizará una historia clínica que consiste en un interrogatorio sobre antecedentes familiares y personales, revisión por parte de un médico y un nutriólogo que harán una exploración física y mediciones corporales básicas (abdomen) y por pletismografía por desplazamiento de aire, que consiste en entrar a una cámara cerrada, donde solamente cabe una persona y se encuentra debidamente desinfectada; tiene la finalidad de estimar el porcentaje de grasa corporal y de masa muscular; posteriormente se diseñará de forma gratuita una dieta cetogénica, de acuerdo a sus necesidades, la cual deberá seguir durante un mes en el que usted no podrá consumir alimentos con carbohidratos por ejemplo, cereales, pan, pastas, alcohol, azúcar, entre otros, y se le agendará una cita para toma de muestras sanguínea y recolección de muestra de heces fecales. Deberá acudir de forma semanal a revisión médica y nutricional; al final del estudio, se le tomará nuevamente muestra de sangre, heces fecales y realización de pletismografía con desplazamiento de aire, todo sin ningún costo para usted.
3. Las molestias que puede presentar durante su participación son leves y el riesgo es moderado, debido a la toma de muestra sanguínea de aproximadamente 10 ml por cada toma, al principio y al final, ya que puede haber moretones, sangrado y en muy raras ocasiones infección del sitio de toma de muestra, lo cual se resolverá con las medidas e indicaciones otorgadas por el médico.
4. El beneficio que usted puede tener es la realización gratuita de todos los estudios, así como la consejería médica y nutricional. De forma general la información que se genere como parte de su colaboración ayudará a ofrecer una mejor consejería para futuros pacientes.
5. Usted tiene la certeza de que recibirá una respuesta a cualquier duda o aclaración acerca del estudio, riesgos, beneficios o acerca de los procedimientos a realizar independientemente de que el estudio ya haya iniciado, además se le facilitará un

- número telefónico de un profesional del equipo de investigación, con el que se podrá comunicar en caso de requerirlo.
6. Usted está en absoluta libertad de abandonar el estudio en el momento en que así lo decida, por las razones que considere pertinentes, sin que esta decisión afecte la atención por parte del médico o nutriólogo, y se compromete a informar de forma oportuna a la persona encargada de la investigación.
  7. Usted autoriza la publicación de los resultados obtenidos en el estudio, con la garantía que sus datos personales, como nombre, edad, antecedentes y resultados de laboratorio, se mantendrán con estricta confidencialidad y bajo secreto profesional.
  8. Nos comprometemos a proporcionarle información actualizada obtenida durante el estudio, si este fuera el caso, aunque, pudiera afectar su voluntad para continuar participando.
  9. Durante el estudio usted no recibirá compensación por su participación, sin embargo, se le realizarán estudios que no le generaran ningún costo y de los cuales recibirá una copia al finalizar su participación, además de orientación médica y nutricional, sin ningún costo.
  10. En el remoto caso de requerirse estudios complementarios, el costo será absorbido por el investigador o la institución. Si llegara a presentar elevación de colesterol o triglicéridos, recibirá consejería médica, nutricional y de ser necesario medicamentos por el tiempo que sea necesario.

#### **Declaración del participante:**

| Marque con una "X" donde corresponda                                                                                          | SI | NO |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----|
| He leído completamente esta carta de consentimiento informado                                                                 |    |    |
| Entendí de que se trata el estudio de investigación incluyendo el objetivo, los posibles riesgos y beneficios                 |    |    |
| Me han permitido hacer preguntas y aclarar mis dudas relacionadas con el estudio                                              |    |    |
| Acepto la realización de historia clínica completa con medidas corporales con bio-impedancia                                  |    |    |
| Acepto la toma de muestra sanguínea, otorgar muestra de orina y de heces fecales, antes y después de la dieta                 |    |    |
| Acepto y me comprometo a seguir la dieta que me diseñaron                                                                     |    |    |
| Me comprometo a conducirme con la verdad en los datos proporcionados al personal médico                                       |    |    |
| Acepto el uso de mis datos e información obtenida en el estudio con el compromiso de que sean manejados de forma confidencial |    |    |

Yo, \_\_\_\_\_  
 Con folio \_\_\_\_\_ acepto participar en el estudio titulado: **“Cambios en la composición de la microbiota intestinal, composición corporal y perfil de lípidos, posterior a un mes de dieta cetogénica isocalórica, en pacientes con obesidad y sujetos no obesos, en población de Tijuana, BC.”**,  
 Fecha: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

(La firma puede ser sustituida por huella digital en los casos que así lo ameriten)

Testigo 1(Nombre y firma):

\_\_\_\_\_  
Dirección:

\_\_\_\_\_  
Relación que guarda con el  
paciente

\_\_\_\_\_  
Testigo 2 (Nombre y  
firma):

\_\_\_\_\_  
Dirección:

\_\_\_\_\_  
Relación que guarda con el paciente:

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Investigador Principal:

\_\_\_\_\_  
**Aviso de Privacidad:** Blanca Jazmin Franquez Flores, investigador principal de este estudio, es responsable del resguardo de los datos personales y la información que nos proporcione, los cuales serán utilizados exclusivamente para lo descrito en el presente documento. Usted puede solicitar la corrección de sus datos o que sean eliminados de nuestras bases.

En cualquiera de estos casos le pedimos dirigirse a la investigadora principal en el siguiente correo electrónico: blanca.franquez@uabc.edu.mx

Este documento se extiende por duplicado, quedando un ejemplar en poder del participante en la investigación y el otro en poder del investigador.

Queda entendido que la Dirección de Investigación, o los Comités podrán requerir este documento en cuanto lo consideren necesario. Este documento deberá ser conservado por el investigador responsable durante un mínimo de 5 años.

### ANEXO 3. Recolección datos composición corporal

| Basal                    |  | 1 semana | 2 semana | 3 semana | 4 final                |  |
|--------------------------|--|----------|----------|----------|------------------------|--|
| Fecha:                   |  |          |          |          | Fecha:                 |  |
| Talla                    |  |          |          |          |                        |  |
| Peso                     |  |          |          |          |                        |  |
| Imc                      |  |          |          |          |                        |  |
| Circunferencia Abdominal |  |          |          |          |                        |  |
| Circunferencia Cadera    |  |          |          |          |                        |  |
| Índice CINTURA-CADERA    |  |          |          |          |                        |  |
|                          |  |          |          |          |                        |  |
| impedancia®              |  |          |          |          | impedancia®            |  |
| Masa libre de grasa %    |  |          |          |          | Masa libre de grasa %  |  |
| Grasa corporal total %   |  |          |          |          | Grasa corporal total % |  |
| Agua corporal total      |  |          |          |          | Agua corporal total    |  |
|                          |  |          |          |          |                        |  |
|                          |  |          |          |          |                        |  |
|                          |  |          |          |          |                        |  |
|                          |  |          |          |          |                        |  |



| BIOQUIMICA BASAL DIA 0 |  |  |  | BIOQUIMICA DIA 28 |  |  |
|------------------------|--|--|--|-------------------|--|--|
| GLUCOSA                |  |  |  | GLUCOSA           |  |  |
| CT                     |  |  |  | CT                |  |  |
| TGL                    |  |  |  | TGL               |  |  |
| HDL                    |  |  |  | HDL               |  |  |
| LDL                    |  |  |  | LDL               |  |  |
| VLDL                   |  |  |  | VLDL              |  |  |
|                        |  |  |  |                   |  |  |
| BH-BUTIRATO            |  |  |  | BH-BUTIRATO       |  |  |
|                        |  |  |  |                   |  |  |
|                        |  |  |  |                   |  |  |

#### ANEXO 4. Dieta habitual previa al estudio

Marque con una x donde corresponda

Señale en el último mes, las veces por semana que consumió los siguientes alimentos

| Alimentos                                                  | 1-2<br>Días por<br>semana | 3-5<br>Días por<br>semana | 6-7<br>Días por<br>semana |
|------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Pan                                                        |                           |                           |                           |
| Tortilla                                                   |                           |                           |                           |
| Pasta                                                      |                           |                           |                           |
| Avena                                                      |                           |                           |                           |
| Quinoa, arroz                                              |                           |                           |                           |
| Cereal de caja                                             |                           |                           |                           |
| Leche origen vegetal (almendra, arroz, coco, soya)         |                           |                           |                           |
| Leguminosas<br>(frijol, lenteja, chícharo, garbanzo, soya) |                           |                           |                           |
| Leche de vaca                                              |                           |                           |                           |
| Queso, crema, yogurt                                       |                           |                           |                           |
| Huevo                                                      |                           |                           |                           |
| Pescado                                                    |                           |                           |                           |
| Pollo                                                      |                           |                           |                           |
| Res                                                        |                           |                           |                           |
| Cerdo                                                      |                           |                           |                           |

|                                                              |  |  |  |
|--------------------------------------------------------------|--|--|--|
| Camarón y otros mariscos                                     |  |  |  |
| Almendra, nuez, cacahuete, chía                              |  |  |  |
| Miel de abeja                                                |  |  |  |
| Miel de agave                                                |  |  |  |
| Endulcolorantes<br>(stevia, splenda, eritritol, fruta monje) |  |  |  |
| Azúcar estándar o mascabado                                  |  |  |  |
| Fruta en general y jugo de fruta natural                     |  |  |  |
| Verduras                                                     |  |  |  |
| Frituras (chips, papas fritas, aros de cebolla)              |  |  |  |
| Alimentos capeados o empanizados                             |  |  |  |
| Hamburguesas                                                 |  |  |  |
| Refrescos, sodas, jugos o néctar de caja o lata              |  |  |  |
| Cerveza                                                      |  |  |  |
| Vino                                                         |  |  |  |
| Destilados (tequila, mezcal, vodka, whisky)                  |  |  |  |
| Café de grano molido                                         |  |  |  |

## ANEXO 5. Recordatorio de 24 horas

### SEMANA 1

| Llamada | 1 | 2 | 3 |
|---------|---|---|---|
| Fecha   |   |   |   |
| Hora    |   |   |   |

| No. llamada | DIETA | APEGO (%) |
|-------------|-------|-----------|
| 1           |       |           |
| 2           |       |           |
| 3           |       |           |

### SEMANA 2

|         |   |   |   |
|---------|---|---|---|
| Llamada | 1 | 2 | 3 |
| Fecha   |   |   |   |
| Hora    |   |   |   |

| No. llamada | DIETA | APEGO (%) |
|-------------|-------|-----------|
| 1           |       |           |
| 2           |       |           |
| 3           |       |           |

### SEMANA 3

|         |   |   |   |
|---------|---|---|---|
| Llamada | 1 | 2 | 3 |
| Fecha   |   |   |   |
| Hora    |   |   |   |

| No. llamada | PORCENTAJE DE CARBOHIDRATOS<br>Gramos (%) | APEGO (%) |
|-------------|-------------------------------------------|-----------|
| 1           |                                           |           |
| 2           |                                           |           |
| 3           |                                           |           |

### SEMANA 4

|         |   |   |   |
|---------|---|---|---|
| Llamada | 1 | 2 | 3 |
| Fecha   |   |   |   |
| Hora    |   |   |   |

| No. llamada | PORCENTAJE DE CARBOHIDRATOS<br>Gramos (%) | APEGO (%) |
|-------------|-------------------------------------------|-----------|
|-------------|-------------------------------------------|-----------|

|   |  |  |
|---|--|--|
| 1 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |

### ANEXO 6. Historia clínica para participantes

Número de expediente:\_\_\_\_\_ Fecha:\_\_\_\_\_ Sexo: Hombre ( ) Mujer ( )  
 Fecha de Nacimiento:\_\_\_\_\_ Edad:\_\_\_\_\_  
 Escolaridad:\_\_\_\_\_ Ocupación actual:\_\_\_\_\_  
 Estado civil:\_\_\_\_\_

#### Antecedentes en Familiares de primer grado (Mamá, Papá, Hermanos o Hijos)

| Condición o enfermedad | SI | NO | ¿Quién? | ¿En qué parte del cuerpo? | ¿Cuáles? |
|------------------------|----|----|---------|---------------------------|----------|
| DM                     |    |    |         |                           |          |
| HAS                    |    |    |         |                           |          |
| Cáncer                 |    |    |         |                           |          |

|                          |  |  |  |  |  |
|--------------------------|--|--|--|--|--|
| Enfermedades Autoinmunes |  |  |  |  |  |
| Enf. Autoinmune          |  |  |  |  |  |
| Enf. Cardiovasculares    |  |  |  |  |  |
| Enf. Psiquiátrica        |  |  |  |  |  |

### Antecedentes Personales no patológicos

Tabaquismo. No ( ) Si ( ) ¿cuántos cigarrillos por día?

Alcoholismo No ( ) Si ( ) ¿Cuántas bebidas por día? ¿Por semana?

Alérgicos No ( ) Si ( ) ¿cuáles?

Toxicomanías No ( ) Si ( ) ¿Cuáles?

### Antecedentes personales patológicos

Quirúrgicos No ( ) Si ( ) ¿cuáles?

Hemotransfusión No ( ) Si ( ) ¿cuándo?

| Condición o enfermedad   | SI | NO | ¿Desde cuándo? | Tratamiento | ¿cuáles? |
|--------------------------|----|----|----------------|-------------|----------|
| DM                       |    |    |                |             |          |
| HAS                      |    |    |                |             |          |
| Cáncer                   |    |    |                |             |          |
| Enfermedades Autoinmunes |    |    |                |             |          |
| Enf. Autoinmune          |    |    |                |             |          |
| Enf. Cardiovasculares    |    |    |                |             |          |
| Enf. Psiquiátrica        |    |    |                |             |          |
|                          |    |    |                |             |          |

### EXPLORACIÓN FÍSICA

TA:

Temperatura:

FC:

FR:

Peso  
Talla  
IMC