



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ASOCIACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL CON EL NIVEL DE
CONSUMO DE VITAMINA B12 Y SU RELACIÓN CON LA
CONCENTRACIÓN SÉRICA DESPUÉS DE CIRUGÍA BARIÁTRICA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

URIEL EDUARDO HERNÁNDEZ ESPINOZA



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE:	Profesora: Marta Alicia Menjívar Iraheta
VOCAL:	Profesor: Hugo Antonio Hernández Pérez
SECRETARIO:	Profesor: Samuel Canizales Quinteros
1er. SUPLENTE:	Profesora: Luz María del Rocío Valdés Gómez
2° SUPLENTE:	Profesora: Sofía Morán Ramos

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Unidad de Genómica de Poblaciones Aplicada a la Salud de la Facultad de Química, UNAM en el INMEGEN

Periférico Sur No. 4809, Col. Arenal Tepepan, Alcaldía Tlalpan, C.P. 14610, Ciudad de México, México.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Samuel Canizales Quinteros

SUPERVISOR TÉCNICO:

Dr. Daniel Cerqueda García

SUSTENTANTE:

Uriel Eduardo Hernández Espinoza

El presente trabajo fue realizado con el financiamiento otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), mediante el Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social SS/IMSS/ISSSTE-CONACyT (FOSISS), No. 289699.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social SS/IMSS/ISSSTE-CONACyT (FOSISS) No. 289699, por el apoyo con una beca para la realización de esta tesis en el periodo comprendido del 01 de Abril de 2022 al 31 de Julio de 2022.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por la formación académica que me han brindado.

A mi asesor de tesis, el Dr. Samuel Canizales Quinteros, por su invaluable guía, tiempo y apoyo para la realización de este proyecto. Así como al Dr. Daniel Cerqueda García, por toda su paciencia, apoyo y asesoría. Gracias a ambos por compartir su experiencia conmigo.

A los miembros del jurado, por su tiempo y observaciones que ayudaron a la mejora del presente trabajo.

A la M. en C. Blanca Estela López Contreras, por su infinita paciencia y su invaluable apoyo en la revisión de este trabajo; y al Dr. Hugo Villamil Ramírez por su apoyo técnico.

Al Dr. Rafael Velázquez por su apoyo en el estudio de sujetos con obesidad y normopeso. A la Dra. Marcela Rodríguez y a la Dra. Bárbara Antuna por su apoyo en el estudio de pacientes con cirugía bariátrica.

A mis compañeros de laboratorio: Erandy e Itzel, por hacer más amenas las horas de trabajo y contribuir con sus consejos y ayuda en la realización de este proyecto.

A Luz, Jessica, Raúl, Gisela, Michelle, Ita y Bianca, por todos los años de amistad, gracias por estar a mi lado.

A mis padres, Sofía y Raúl, por su cariño y apoyo incondicional en cada uno de mis proyectos. Ustedes me motivan a seguir adelante. A mi familia, por su apoyo y comprensión.

Finalmente a todas las personas que confiaron en mi, que me brindaron su apoyo y que me ayudaron a salir adelante, a quienes me acompañaron o acompañan en este camino.

Tabla de contenido

Listado de abreviaturas	3
Listado de tablas	5
Listado de figuras	6
Resumen	7
Antecedentes	10
I. Epidemiología de la obesidad en México y factores que contribuyen a su desarrollo	10
II. La microbiota intestinal y su relación con la obesidad	11
III. Interacción de las bacterias intestinales con las vitaminas	13
IV. Absorción, transporte y metabolismo de vitamina B12 en el humano	14
V. Deficiencias de cobalamina en sujetos con obesidad	18
VI. Implicaciones de la cirugía bariátrica en la microbiota intestinal y la deficiencia de vitamina B12	19
Justificación	23
Hipótesis	23
Objetivos	24
Objetivo general	24
Objetivos específicos	24
Metodología	25
a) Poblaciones de estudio	25
b) Evaluación antropométrica	25
c) Evaluación de la ingesta dietética habitual	25
d) Definición de los grupos de estudio para evaluar las diferencias en la microbiota intestinal por nivel de ingesta de vitamina B12	26
e) Determinaciones bioquímicas	26
f) Muestreo de heces y extracción de ADN bacteriano	28
g) Secuenciación del gen rARN 16S	28
h) Procesamiento de secuencias	29
i) Análisis bioinformático	29

j) Análisis estadístico	30
Resultados y discusión	32
1) Características antropométricas, bioquímicas y dietéticas de los sujetos con distinto nivel de ingesta de vitamina B12	32
2) Diversidad alfa y beta de la microbiota intestinal, entre distintos niveles de ingesta de vitamina B12	34
3) Géneros de la microbiota intestinal enriquecidos en los grupos de estudio	36
4) Diferencias en la predicción funcional de la microbiota intestinal entre distintos niveles de ingesta de vitamina B12	39
5) Relación de la microbiota intestinal con los niveles circulantes de vitamina B12 en pacientes con cirugía bariátrica	42
Conclusiones	46
Perspectivas	46
Anexo	47
Bibliografía	49

Listado de abreviaturas

Abreviatura	Significado
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
ASV	Variantes de secuencia de amplicón
ATP	Adenosín Trifosfato
B12	Vitamina B12
BGYR	Bypass gástrico en Y de Roux
C-HDL	Lipoproteínas de alta densidad
C-LDL	Lipoproteínas de baja densidad
CFCA	Cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos
CoA	Coenzima A
EUA	Estados Unidos de América
HC	Haptocorrina
holoTC	Complejo Transcobalamina-cobalamina
HWCS	Estudio de Cohorte de Trabajadores de la Salud
IF	Factor intrínseco
IMC	Índice de masa corporal
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
INMEGEN	Instituto Nacional de Medicina Genómica
KEGG	Enciclopedia de genes y genomas de Kyoto
LDA	Análisis discriminante lineal
LEfSe	Tamaño del efecto de discriminante lineal
MI	Microbiota intestinal
MRP1	Proteína asociada a resistencia de múltiples fármacos 1
NP/B12-A	Normopeso con ingesta alta de vitamina B12
NP/B12-B	Normopeso con ingesta baja de vitamina B12
OB/B12-A	Obesidad con ingesta alta de vitamina B12
OB/B12-B	Obesidad con ingesta baja de vitamina B12
OMS	Organización Mundial de la Salud
OTUs	Unidades taxonómicas operativas

PLP	Piridoxal 5'-fosfato (Derivado de vitamina B6)
QIIME2	Quantitative Insights Into Microbial Ecology 2
rARN	ARN ribosomal
TC	Transcobalamina
THF / FH4	Tetrahidrofolato (Derivado de vitamina B9)

Listado de tablas

Tabla	Nombre de la Tabla	Página
Tabla 1.	Deficiencias de micronutrientes previas a la cirugía bariátrica	21
Tabla 2.	Puntos de corte de la ingesta de vitamina B12 para la definición de los grupos de estudio	27
Tabla 3.	Características antropométricas, bioquímicas y dietéticas de los grupos de estudio	33
Tabla 4.	Comparaciones de diversidad beta entre los grupos de estudio	36
Tabla 5.	Características antropométricas y bioquímicas de la población de estudio con cirugía bariátrica	42

Listado de figuras

Tabla	Nombre de la Figura	Página
Figura 1.	Resumen esquemático de la captación y transporte de vitamina B12 en humanos	17
Figura 2.	Selección de los grupos de estudio por nivel de ingesta de vitamina B12.	27
Figura 3.	Estimaciones de diversidad alfa por grupo de estudio	35
Figura 4.	Estimaciones de diversidad alfa por estado nutricional	35
Figura 5.	Análisis de LEfSe para la comparación de géneros entre los grupos OB/B12-A y OB/B12-B	38
Figura 6.	Análisis de LEfSe para la comparación de rutas metabólicas entre los grupos NP/B12-A y NP/B12-B	40
Figura 7.	Análisis de LEfSe para la comparación de rutas metabólicas entre los grupos OB/B12-A y OB/B12-B	41
Figura 8.	Correlación entre niveles en circulación de Vitamina B12 con la abundancia relativa del género <i>Oscillibacter</i>	44
Figura 9.	Abundancia del género <i>Oscillibacter</i> en los tiempos pre-cirugía y a un año de seguimiento	44

Resumen

Antecedentes: La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial asociada con factores genéticos, ambientales y de estilo de vida, que en la mayoría de los casos se presenta como consecuencia de una dieta inadecuada caracterizada por una ingesta excesiva de alimentos con alto contenido de grasas saturadas y azúcares refinados. Actualmente es considerada uno de los principales problemas de salud pública en el país. La modificación en la composición de la microbiota intestinal por una dieta baja en fibra y rica en carbohidratos simples y ácidos grasos saturados es un posible mecanismo a través del cual la dieta podría condicionar el desarrollo de obesidad. Particularmente, existe evidencia de que la concentración circulante de algunas vitaminas, como la vitamina B12, se asocia con su nivel de ingesta y la presencia de obesidad. Además, se ha propuesto que la microbiota intestinal podría modificar las concentraciones en circulación de vitamina B12 debido a las actividades de síntesis o metabolismo.

Por otra parte, la pérdida de peso debida a procedimientos quirúrgicos como la cirugía bariátrica por bypass gástrico de en Y de Roux (BGYR) provoca cambios importantes en la composición taxonómica de la microbiota intestinal, los cuales coinciden con una deficiencia en la absorción de nutrientes, incluida la vitamina B12.

Por ello, en este estudio se plantea que las diferencias en la ingesta de vitamina B12 podrían asociarse con perfiles específicos de microbiota intestinal, independientemente de la presencia de obesidad. También se propone que los perfiles de microbiota intestinal asociados a la ingesta de vitamina B12, se relacionarán con los niveles circulantes de esta vitamina después de un año de realizada la cirugía bariátrica por BGYR.

Objetivos: Analizar las diferencias en el perfil y funcionalidad de la microbiota intestinal en sujetos normopeso y sujetos con obesidad, con una ingesta baja o alta de vitamina B12; y evaluar si la microbiota intestinal diferenciada de acuerdo al nivel de ingesta de vitamina B12 está relacionada con los niveles circulantes de vitamina B12, antes y después de la cirugía bariátrica .

Metodología: Se realizó un estudio transversal en el que se incluyeron 49 adultos normopeso y 28 adultos con obesidad de los cuales se tuvieron disponibles datos bioquímicos, antropométricos y dietéticos. Además, se incluyeron 20 pacientes sometidos a BGYR con seguimiento a un año. La microbiota intestinal de todos los sujetos y pacientes se evaluó por secuenciación de la región V4 o V3-V4 del gen 16S rARN a través de la plataforma Illumina MiSeq. Las diferencias de la microbiota intestinal a nivel de género y en su funcionalidad fueron evaluadas al comparar 4 grupos de estudio: normopeso con ingesta baja de vitamina B12 (NP/B12-B), normopeso con ingesta alta de vitamina B12 (NP/B12-A), obesidad con ingesta baja de vitamina B12 (OB/B12-B), y obesidad con ingesta alta de vitamina B12 (OB/B12-A). Además, se evaluó la asociación entre la abundancia de los géneros diferenciados por nivel de ingesta y los niveles circulantes de vitamina B12 en la población de pacientes con cirugía bariátrica.

Resultados: Se observó que en un mismo estado nutricional, la ingesta alta de vitamina B12 no generó diferencias significativas en los parámetros bioquímicos al compararse con el grupo de ingesta baja. En cuanto a las diferencias en la microbiota intestinal, se observó que el grupo OB/B12-B tuvo una menor diversidad alfa aunque sin significancia estadística. En los grupos con obesidad, una alta ingesta de vitamina B12 se relacionó con el enriquecimiento de 5 géneros: *Acidaminococcus*, *Peptococcus*, *Lactobacillus*, *Hungatella* y *Oscillibacter*, de los cuales sólo este último estuvo presente en al menos el 75% de los pacientes previo a la cirugía bariátrica. Con respecto a la predicción funcional, en los grupos normopeso la ingesta alta de vitamina B12 se relacionó con el enriquecimiento de la vía de la respiración aeróbica I (citocromo c), la cual podría implicar la participación indirecta de vitamina B12.

Los pacientes con cirugía bariátrica no presentaron cambios significativos en los niveles circulantes de vitamina B12. Además, se observó una disminución en la abundancia del género *Oscillibacter* al mes 12 después de realizada la cirugía, pero no se encontró una asociación significativa con los niveles circulantes de vitamina B12.

Conclusiones: Considerando lo reportado en la literatura, los enriquecimientos observados de la microbiota intestinal podrían atribuirse a la combinación del estado nutricional y la ingesta de vitamina B12. Los resultados de la predicción funcional sugieren un favorecimiento de la utilización de vitamina B12 cuando las bacterias tienen una alta

disponibilidad de esta vitamina en el medio. Se sugiere realizar estudios longitudinales que evalúen el estado nutricional, la ingesta de vitamina B12, los niveles circulantes de la fracción biodisponible, así como la composición de la microbiota intestinal para poder identificar perfiles de la microbiota intestinal asociados con la producción o utilización de vitamina B12, que potencialmente pudieran contribuir a la concentración circulante de esta vitamina. Finalmente, este es el primer estudio que muestra la posible interrelación entre obesidad, ingesta alta de vitamina B12 y mayor abundancia del género *Oscillibacter*.

Antecedentes

I. Epidemiología de la obesidad en México y factores que contribuyen a su desarrollo.

La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial en la que participan factores genéticos, ambientales y de estilo de vida, los cuales pueden condicionar a una acumulación excesiva de grasa corporal. La obesidad es considerada como el principal factor de riesgo modificable para el desarrollo de enfermedades crónicas (Astrup *et al.*, 2008; Clark y Brancati, 2000; Emerging Risk Factor Collaboration, 2011), como diabetes tipo 2, hipertensión, dislipidemias, enfermedades osteoarticulares y algunos tipos de cáncer como el de mama, próstata e hígado (Peltonen y Carlsson, 2007; Lauby-Secretan *et al.*, 2016; Arnold *et al.*, 2012; Rizo *et al.*, 2015).

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición Continua 2021, la prevalencia de obesidad en adultos mexicanos es de 31.8% en hombres y de 41.1% en mujeres, manteniendo una tendencia en aumento al igual que en periodos anteriores. Por ello, la obesidad es considerada uno de los principales problemas de salud pública en el país (Shamah-Levy *et al.*, 2022).

Actualmente el indicador más utilizado para diagnosticar obesidad es el índice de masa corporal (IMC), definido como el peso de una persona en kilogramos dividido por su altura en metros al cuadrado. Por convención, en adultos se estableció la siguiente clasificación: IMC < 18.5 kg/m² indica peso bajo, entre 18.5 y 24.9 kg/m² se considera saludable, entre 25.0 y 29.9 kg/m² se establece sobrepeso o pre-obesidad, y un IMC ≥ 30 kg/m² señala obesidad, la cual a su vez se subclasifica como grado I (30.0 ≤ IMC ≤ 34.9), grado II (35 ≤ IMC ≤ 39.9), y finalmente grado III (40.0 ≤ IMC) o también llamada obesidad mórbida (Uranga y Keller, 2019; CDC, 2021).

La inactividad física, la ingesta de alimentos con alta densidad energética en porciones mayores a la recomendadas, incluyendo el consumo de refrescos y bebidas azucaradas, se han identificado como los principales factores de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad (Campos *et al.*, 2018). Un patrón dietético occidental caracterizado por una baja ingesta en fibra (frutas y verduras) y una ingesta alta de grasas saturadas y sodio (cereales refinados y alimentos procesados), ha sido asociado con mayores probabilidades de desarrollo de sobrepeso u obesidad (Rahkra *et al.*,

2020). Además de su alto contenido en azúcares libres y grasas saturadas y trans, los alimentos ultra procesados aportan cantidades mínimas de fibra, proteína y micronutrientes (Martínez-Steele, 2017), por lo que la obesidad atribuible a esta alta ingesta puede ser en realidad una enfermedad de desnutrición. Al respecto, diversos estudios observacionales sugieren de manera consistente, que las concentraciones en circulación de algunos micronutrientes (vitaminas y minerales) están asociadas inversamente con el IMC (Kimmons *et al.*, 2006; McKay *et al.*, 2020; Thomas-Valdés *et al.*, 2020). Debido a que estos nutrientes son obtenidos de la dieta, también se ha investigado la relación de la ingesta de vitaminas con la obesidad; sin embargo, los escasos estudios publicados al respecto han obtenido resultados inconsistentes, uno de ellos observó asociaciones positivas entre la ingesta de vitaminas y la presencia de obesidad (Ju *et al.*, 2022), mientras que otro estudio encontró estas asociaciones de manera inversa (Tang *et al.*, 2022), e incluso un tercer estudio reportó la falta de asociación entre ambas variables (Gottschall *et al.*, 2020).

Por otra parte, la dieta también provoca cambios en la microbiota intestinal (David *et al.*, 2014; Duncan *et al.*, 2007; Lang *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2011), la cual ha sido identificada como un posible factor que contribuye a la patogénesis de la obesidad (Bäckhed *et al.*, 2007; Le Chatelier *et al.*, 2013; Stanislawski *et al.*, 2019; Zhao, 2013).

II. La microbiota intestinal y su relación con la obesidad.

La microbiota intestinal (MI) consume, transforma, y secreta muchas moléculas, tales como: nutrientes (Rajakovich y Balskus, 2019), metabolitos de la fermentación de macronutrientes (Oliphant y Allen-Vercoe, 2019), enzimas extracelulares (Kaoutari *et al.*, 2013), antimicrobianos (García-Gutiérrez *et al.*, 2019), y moléculas de quorum sensing que permiten a las bacterias controlar su expresión génica en respuesta a la densidad de población bacteriana. Las bacterias también producen moléculas de señalización que pueden impactar el comportamiento de otros microorganismos al promover o inhibir su crecimiento, creando interacciones que pueden beneficiar o perjudicar a las especies involucradas (Jimenez y Sperandio, 2019). Una interacción benéfica común y esencial es la alimentación cruzada, donde el producto del metabolismo de una cepa se utiliza en la nutrición de otra especie (Smith *et al.*, 2019).

Los compuestos derivados de la microbiota intestinal juegan un papel importante en el metabolismo del hospedero, participando en procesos como la nutrición, inmunidad, y conductas emocionales. (Torres-Miranda *et al.*, 2021). Por ejemplo, se ha demostrado que algunas bacterias como *Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus* spp. tienen la capacidad de sintetizar vitamina K y vitaminas B como biotina, cobalamina, folatos, ácido nicotínico, ácido pantoténico, piridoxina, riboflavina y tiamina (LeBlanc *et al.*, 2013). Además, existe evidencia que demuestra que la microbiota intestinal también influye en el equilibrio energético (Xiao *et al.*, 2020), mediante su participación en diversos mecanismos como: (a) fermentación de carbohidratos no digeribles, lo que conduce a la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), que pueden funcionar como fuente adicional de energía para el hospedero; (b) aumento en la permeabilidad intestinal de lipopolisacáridos bacterianos (LPS), lo que potencia la inflamación de bajo grado ocasionada por la obesidad, que a su vez puede promover la resistencia a la insulina (Zeng *et al.*, 2017; Artemniak-Wojtowicz *et al.*, 2020); y (c) aumento de la actividad del sistema endocannabinoide intestinal, contribuyendo a la mayor permeabilidad intestinal (Muscogluri *et al.*, 2019).

Por otra parte, factores como la edad, la genética, la ubicación geográfica, el estilo de vida, la dieta, los medicamentos y el uso de prebióticos, probióticos y simbióticos, pueden afectar la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal (Torres-Miranda *et al.*, 2021). Asimismo, se ha descrito que algunas enfermedades van acompañadas de un cambio en la composición microbiana que provoca un desequilibrio drástico entre bacterias potencialmente benéficas y potencialmente patógenas (Chan *et al.*, 2013). Este desequilibrio en el balance microbiano se denomina "disbiosis", y se define como una alteración a la homeostasis de la microbiota, relacionado con 3 fenómenos diferentes que pueden ocurrir al mismo tiempo: 1) pérdida de organismos benéficos, 2) exceso de crecimiento de bacterias potencialmente dañinas y 3) pérdida de diversidad microbiana (Chan *et al.*, 2013; Peterson *et al.*, 2015).

Algunos ejemplos de enfermedades asociadas con alteraciones microbianas incluyen las autoinmunes, la enfermedad inflamatoria intestinal y la obesidad (Clemente *et al.*, 2012). Respecto a esta última, recientemente se han presentado diversas evidencias científicas que sugieren una interrelación recíproca entre la obesidad y la microbiota intestinal, ya que la obesidad se considera tanto una causa como una consecuencia del

cambio en la composición bacteriana (Georgiu, 2021). No obstante, de manera consistente los sujetos con obesidad han demostrado tener una reducción en la diversidad y riqueza de las comunidades microbianas, la cual se puede revertir realizando intervenciones para lograr una pérdida de peso (Turnbaugh *et al.*, 2009; Remely *et al.*, 2015). Aún no se ha identificado un perfil microbiano específico asociado con un diagnóstico de obesidad (Cunningham *et al.*, 2021); sin embargo, uno de los hallazgos más destacados en relación a las complicaciones metabólicas de la obesidad, es la reducción de bacterias productoras de butirato como *Akkermansia* sp. y *Faecalibacterium prausnitzii*, en conjunto con el aumento de patógenos oportunistas (Vallianou *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2020; Maioli *et al.*, 2021). Otros estudios en sujetos con obesidad, también han mostrado una reducción en la abundancia de las familias *Rikenellaceae* y *Christensenellaceae*; así como de los géneros *Bifidobacterium* y *Oscillospira* (Shwiertz *et al.*, 2010; Gao *et al.*, 2018; Remely *et al.*, 2015; Vallianou *et al.*, 2019; Collado *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2017; Goodrich *et al.*, 2014).

III. Interacción de las bacterias intestinales con las vitaminas.

Las vitaminas representan un grupo amplio de moléculas con diversas funciones para el ser humano, las cuales se clasifican en vitaminas liposolubles e hidrosolubles. Las vitaminas liposolubles son componentes integrales de la membrana celular, se absorben y transportan en el cuerpo de manera similar a las grasas, mientras que las hidrosolubles participan generalmente como cofactores en reacciones bioquímicas de óxido-reducción y del metabolismo de carbohidratos, aminoácidos y ácidos grasos. (Basu y Donaldson, 2003; Pham *et al.*, 2021).

La deficiencia vitamínica, debida a una dieta desequilibrada, al aumento de los requerimientos fisiológicos, o a alteración por interacciones fármaco-micronutrientes, afecta la salud del hospedero de diversas maneras y puede tener graves consecuencias en la salud, que van desde la fatiga hasta problemas dermatológicos, digestivos, cardiovasculares o trastornos neurológicos y depresivos (Porter *et al.*, 2016). La absorción de vitaminas provenientes de la dieta se lleva a cabo principalmente en el intestino delgado. Por su parte, el colon también contribuye a la absorción, así como a la producción de vitaminas por parte de la microbiota intestinal (Said *et al.*, 2011). Por lo tanto, la alteración del ambiente intestinal y las capacidades de absorción, puede potencialmente alterar el estado vitamínico del hospedero (Volland *et al.*, 2021).

Entre las vitaminas y la microbiota intestinal existe una relación bidireccional con efectos directos e indirectos. Diversos estudios han descrito que la mayoría de las bacterias que habitan en el intestino, expresan la maquinaria genética que permite la síntesis y el metabolismo de varias vitaminas, incluida la vitamina B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina), B5 (ácido pantoténico), B6 (piridoxina), B7 (biotina), B9 (folato), B12 (cobalamina), vitamina K2 (menaquinona) y vitamina A (Grizotte-Lake *et al.*, 2018; Iyer y Vaisnava, 2019; Magnúsdóttir *et al.*, 2015; Das *et al.*, 2019). Por ello, la microbiota intestinal es considerada un productor de vitaminas que contribuye a la suficiencia de micronutrientes y a la estabilidad de las comunidades bacterianas en el intestino (LeBlanc *et al.*, 2013). Sin embargo, también se ha observado que la suplementación de vitamina A (Lv *et al.*, 2016), vitamina C (Li *et al.*, 2017), vitamina B12 (Degnan *et al.*, 2014) y vitamina D (Kanhare *et al.*, 2018), puede generar cambios en la composición de la microbiota intestinal al promover la colonización de varias especies benéficas de *Bifidobacterium* y los géneros *Lactobacillus* y *Roseburia*, sugiriendo que las bacterias intestinales también pueden utilizar las vitaminas provenientes de la dieta.

Asimismo, las vitaminas que actúan como cofactores en las reacciones de generación de energía participan en el metabolismo energético de las bacterias y pueden ayudar directamente en el crecimiento y funcionalidad de ciertos tipos de microorganismos (Magnúsdóttir *et al.*, 2015). Finalmente, las vitaminas pueden actuar como moduladores indirectos de la microbiota intestinal a través de la alteración de la respuesta inmunitaria del hospedero o la susceptibilidad a las infecciones, especialmente intestinales (Araki *et al.*, 1995; Kau *et al.*, 2011; Smith *et al.*, 2011).

IV. Absorción, transporte y metabolismo de vitamina B12 en el humano.

Como se mencionó anteriormente, un estado de obesidad comúnmente va acompañado de deficiencias de algunas vitaminas en circulación, y a pesar de que todas las vitaminas cumplen diversas funciones que son importantes para el mantenimiento de la salud en los seres humanos, la vitamina B12 es de particular interés por los diversos hallazgos que se han obtenido en modelos animales, asociando una dieta con restricción o ingesta baja de cobalamina con una mayor ganancia de

peso (Kumar *et al.*, 2013) y una alteración del perfil lipídico (Ghosh *et al.*, 2016), sugiriendo también una mayor actividad de lipogénesis (Boachie *et al.*, 2020).

La vitamina B12 pertenece a la familia de compuestos de cobalamina, su estructura química se compone de un anillo de corrina con un ion central de cobalto coordinado a cuatro anillos de pirrol reducidos cuyas dos posiciones de coordinación restantes están ocupadas por un grupo 5,6-dimetilbencimidazolilo debajo del anillo y ligandos intercambiables en posición superior al anillo. Las formas biológicamente activas metil- y 5-desoxiadenosil- se requieren como cofactores para dos enzimas metabólicamente importantes: la metionina sintasa, responsable de la metilación de la homocisteína a metionina, donde además el metil-THF se convierte en THF como subproducto de esta reacción, y la metilmalonil CoA-mutasa, que cataliza la isomerización reversible de L-metilmalonil-CoA a succinil-CoA (O'Leary y Samman, 2010; Ciobârcă *et al.*, 2020; Smith *et al.*, 2018). La metionina es necesaria para la formación de S-adenosilmetionina, un donador de grupos metilo requerido en procesos como la síntesis de fosfolípidos, neurotransmisores, y regulación de la expresión génica. Por su parte, a través de la formación de succinil-CoA, la vitamina B12 ayuda a metabolizar los ácidos grasos de cadena impar y los aminoácidos de cadena ramificada (Stover *et al.*, 2010; Oh *et al.*, 2003; Al Amin *et al.*, 2022).

Esta vitamina se encuentra de forma natural en los productos alimenticios de origen animal, como carnes rojas, aves, mariscos, huevo, leche y otros productos lácteos (Watanabe, 2018). Estos productos ricos en vitamina B12 también son ricos en otros nutrientes como zinc, hierro, vitamina D y proteínas (Obeid *et al.*, 2019). La vitamina B12 se clasifica como una vitamina esencial ya que se obtiene completamente de la dieta, y a pesar de que puede ser sintetizada por algunas bacterias residentes en el intestino grueso (Fang *et al.*, 2017), el sitio de absorción en el intestino delgado está significativamente distante del sitio de esta síntesis, dificultando su absorción (Stabler *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2018).

Como ya se ha mencionado, la microbiota intestinal tiene capacidad de sintetizar vitamina B12. La ruta biosintética de cobalamina está presente en el 42% de los genomas de la microbiota intestinal humana y se puede encontrar en la mayoría de las Fusobacterias y es menos común en Actinobacteria y Proteobacteria. Además, aproximadamente la mitad de los genomas de Bacteroidetes presentan esta ruta

biosintética (Magnúsdóttir *et al.*, 2015). Aunado a ello, se ha demostrado que 83% de las bacterias de la microbiota intestinal codifican enzimas dependientes de cobalamina (Degnan *et al.*, 2014) y que tres cuartas partes de las bacterias intestinales son organismos que utilizan cobalamina (Zhang *et al.*, 2009). Estos análisis del genoma bacteriano, indican que algunas bacterias intestinales dependen de la internalización de cobalamina para adquirir niveles suficientes de su entorno (Uebanso *et al.*, 2020).

En humanos, la absorción de vitamina B12 proveniente de la dieta se facilita por tres proteínas transportadoras de unión a B12 denominadas haptocorrina (HC), factor intrínseco (IF) y transcobalamina (TC) (Fedosov, 2012; Nielsen *et al.*, 2012). En el mecanismo de captación de vitamina B12, la primera en actuar es la HC, que se excreta en saliva y en la parte superior del tracto gastrointestinal, además esta proteína también se encuentra en la circulación sanguínea. HC tiene una alta afinidad por B12 y sus análogos, se une a medida que se libera la vitamina a través de las etapas iniciales de la digestión en la boca y el estómago. La HC y otros complejos proteicos unidos a la vitamina B12 se digieren más adelante en el intestino delgado para liberar a B12, donde se une al IF. Este factor es producido por las células parietales en el estómago, se une de manera más específica a la vitamina B12 y tiene una afinidad limitada por sus análogos. En el íleon, el complejo IF-cobalamina cruza la membrana intestinal a través del receptor cubam de las células epiteliales, facilitando su endocitosis hacia el lisosoma, en donde el IF se degrada, y la cobalamina se libera al citosol para ser transportada al torrente sanguíneo a través de la proteína asociada a resistencia de múltiples fármacos 1 (MRP1). Una vez en el torrente sanguíneo, la mayor parte de la vitamina B12 (80%) y sus análogos se unen a HC, mientras que el resto se une a TC. El complejo TC-cobalamina (holoTC) se internaliza en las células mediante endocitosis mediada por receptor, después de unirse al receptor de TC (una proteína transmembranal llamada CD320) (Smith *et al.*, 2018) (Figura 1). Finalmente, la holoTC se degrada proteolíticamente en los lisosomas y se libera la vitamina B12 para su utilización. Prácticamente toda la vitamina en la célula se une principalmente a dos enzimas B12-dependientes:

- Metionina sintasa (también llamada metil-FH4 metiltransferasa) en el citosol, utilizándose como cofactor en forma de metilcobalamina.

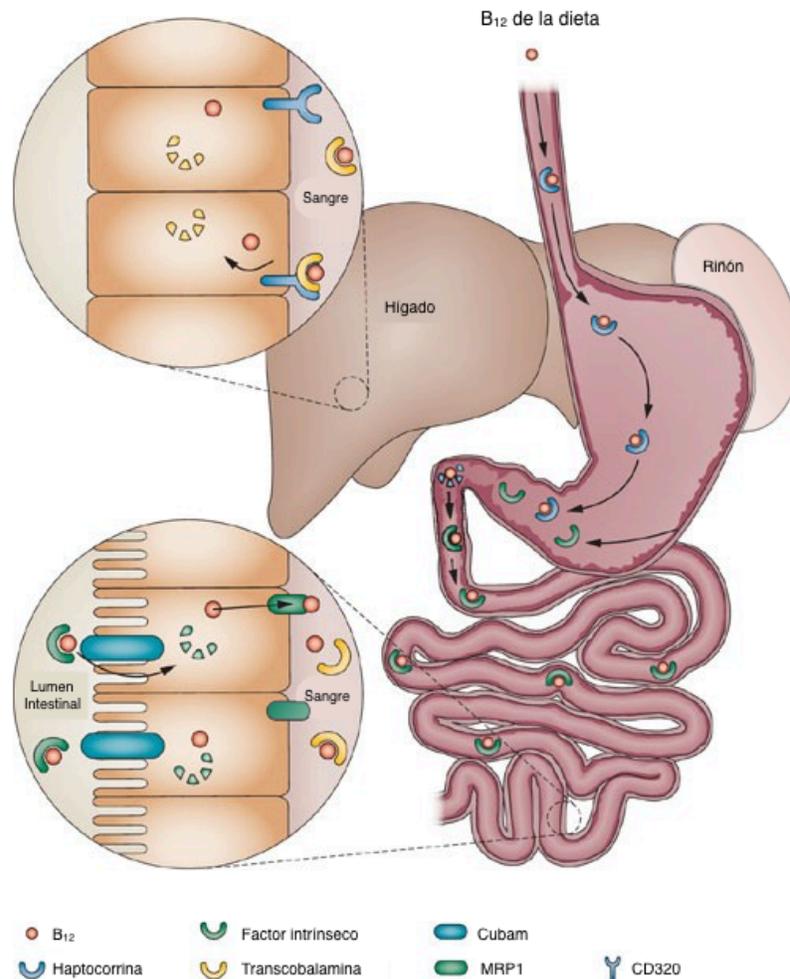


Figura 1. Resumen esquemático de la captación y transporte de vitamina B12 en humanos (Nielsen *et al.*, 2015).

En el tracto gastrointestinal superior, la vitamina B12 se libera de los componentes de los alimentos y se une a la haptocorrina, una proteína presente en la saliva y los fluidos gástricos. Al llegar al duodeno, la haptocorrina es degradada y la B12 es captada por el factor intrínseco secretado por las células parietales de la mucosa de la pared gástrica. En el íleon, la B12 unida al factor intrínseco es endocitada por unión al receptor cubam. Dentro del enterocito, el factor intrínseco se degrada y B12 se libera al plasma mediante el transportador MRP1. En plasma, B12 se une a haptocorrina o transcobalamina. Esta última es responsable de suministrar B12 a las células de los tejidos periféricos. En el hígado y otros tejidos, la captación de B12 celular depende de transcobalamina a través del receptor CD320.

- Metilmalonil CoA mutasa en mitocondrias, utilizándose como cofactor en forma de adenosil-cobalamina.

La vitamina B12 se excreta en su forma libre tanto por vía renal como biliar a una tasa diaria de alrededor de 0.1 a 0.2% de las reservas corporales totales, esto es de 2 a 5 µg/día, lo que constituye su requerimiento de ingesta diaria. La principal vía de excreción es la biliar; sin embargo, la mayor parte (65-75%) se reabsorbe en el íleon mediante transporte activo mediado por IF (el Kholty *et al.*, 1991).

V. Deficiencias de cobalamina en sujetos con obesidad.

La cobalamina es la que mejor se almacena de las vitaminas B, bajo condiciones de ingesta ilimitada, se acumula en cantidades considerables en el organismo, principalmente en el hígado (alrededor del 60% de las reservas corporales totales) y en los músculos (alrededor del 30% del total). El promedio de las reservas corporales totales de esta vitamina se encuentra en el rango de 2 a 5 mg (Combs & McClung, 2017).

La deficiencia generalmente es causada por una absorción disminuida, una ingesta baja, aumento de requerimientos fisiológicos o alteraciones en el metabolismo del micronutriente (Green y Miller, 2022). Algunas consecuencias de deficiencias de esta vitamina son: anemia megaloblástica o anemia macrocítica, degeneración de la médula espinal, deterioro de la función nerviosa sensorial y periférica, deterioro cognitivo, depresión, enfermedad ósea, pérdida de audición, entre otras (Green *et al.*, 2017). Se ha reportado que en la población general de los EUA, la prevalencia de la deficiencia de vitamina B12 es de alrededor del 5% y esta aumenta con la edad (Allen, 2009).

Existe un escaso número de estudios que evalúen la asociación entre la ingesta dietética de vitamina B12 y los niveles en circulación de la misma. Si bien en la mayoría de los casos se ha encontrado una tendencia a correlacionar positivamente (Baart *et al.*, 2020; Hartman *et al.*, 2001; Planells *et al.*, 2003; Vogiatzoglou *et al.*, 2009; Tucker *et al.*, 2000), también hay estudios en los que no se ha encontrado asociación significativa (Sofi *et al.*, 2005) o incluso han reportado correlación negativa (Van Guelpen *et al.*, 2005).

Adicionalmente, otros estudios se han enfocado en evaluar el impacto de los niveles circulantes de vitamina B12 sobre las alteraciones metabólicas. Un estudio realizado en una cohorte de aproximadamente 1000 pacientes con obesidad reportó una correlación negativa y significativa entre el índice de masa corporal (IMC) y los niveles sanguíneos de vitamina B12. Además, en este estudio también se encontró que los sujetos con resistencia a la insulina o síndrome metabólico mostraron una tendencia a presentar menores concentraciones sanguíneas de vitamina B12, en comparación con los participantes sin alteraciones metabólicas. En dicho estudio la dieta de los participantes no fue evaluada por lo que no fue posible conocer si los niveles circulantes bajos de

vitamina B12 se relacionaban con deficiencias en su ingesta (Baltaci *et al.*, 2013). No obstante, otro estudio en donde fue administrado un suplemento de vitamina B12 y folato, mostró una mejoría en la resistencia a la insulina en pacientes con síndrome metabólico (Setola *et al.*, 2004), lo cual sugiere una relación entre la baja ingesta de B12 con el desarrollo de alteraciones metabólicas de la obesidad.

En otra cohorte de participantes con sobrepeso u obesidad, se encontró una prevalencia de 13% de deficiencia de vitamina B12, y llamó la atención que los niveles séricos de vitamina B12 aumentaron después de una pérdida de peso inducida por una dieta baja en energía (Geiker *et al.*, 2018). Sin embargo, no se ha podido confirmar si la ingesta de vitamina B12 participa en la ganancia o pérdida de peso en adultos, ya que solo se ha reportado un estudio en donde no se encontró un efecto significativo sobre el IMC o la composición corporal tras 2 años con suplementación de folato y B12 en adultos mayores (Oliai Araghi *et al.*, 2020).

VI. Implicaciones de la cirugía bariátrica en la microbiota intestinal y la deficiencia de vitamina B12.

La cirugía bariátrica es considerada el tratamiento más efectivo para la pérdida de peso y la resolución de padecimientos relacionados con la obesidad. Esta cirugía es la opción terapéutica de elección cuando los tratamientos que toman como base un cambio en el estilo de vida y/o la medicación han sido ineficaces (Tuomi y Logomarsino, 2016). Este procedimiento logra una pérdida de peso sostenida y en algunos casos genera la resolución de comorbilidades como la diabetes tipo 2, la esteatosis hepática, y las enfermedades cardiovasculares, generando además una reducción en la mortalidad (Courculas *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2020; Khorgami *et al.*, 2019; Schauer *et al.*, 2017; Bouchwald *et al.*, 2009).

Este tratamiento quirúrgico se recomienda para personas con un IMC ≥ 40 kg/m² o con un IMC > 35 kg/m² con comorbilidades metabólicas (Fried *et al.*, 2014). Los procedimientos para la realización de cirugía bariátrica se clasifican en restrictivos y/o malabsortivos. Los procesos quirúrgicos de bypass gástrico en Y de Roux por vía laparoscópica (BGYR) y la manga gástrica son los más recomendados por la Secretaría de Salud en México, por su perfil de seguridad y eficacia, así como por tener la mejor relación riesgo/beneficio (Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud, 2018).

El bypass gástrico en Y de Roux implica tanto la restricción en la cantidad de alimentos ingeridos, mediante la creación de una pequeña bolsa gástrica que mide aproximadamente 15 a 30 mL, como también la malabsorción al re-direccionar el intestino delgado y desviar el flujo de nutrientes hacia el intestino delgado distal, lo que resulta en una reducción de la capacidad alimentaria y una malabsorción de nutrientes. Además de causar malabsorción nutricional, el bypass gástrico desvía las secreciones gástricas y la bilis inmediatamente hacia el segmento yeyunal medio, lo que produce complejas alteraciones neurohormonales, de ácidos biliares y de la microbiota intestinal que afectan el hambre, la saciedad, la sensibilidad a la insulina y la homeostasis de la glucosa (le Roux *et al.*, 2006; Albaugh *et al.*, 2016). Se ha reportado que a un año después de la cirugía, los pacientes pierden en promedio entre el 60-70% de exceso de peso corporal (Hatoum *et al.*, 2009; Bettencourt-Silva *et al.*, 2019), aunque algunos estudios han reportado reganancia de peso a los 10 años post-cirugía (Sjöström *et al.*, 2007, Sjöström *et al.*, 2004).

Dentro de los cambios en la microbiota intestinal posteriores al BGYR, se ha reportado un incremento en la riqueza de genes microbianos y un aumento en la diversidad de poblaciones bacterianas intestinales (Debédát *et al.*, 2019; Aron-Wisnewsky *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2017). Sin embargo, a pesar de la pérdida de peso y la mejora de los marcadores metabólicos observados después de la cirugía, el nivel de riqueza de genes microbianos a los 12 meses del tratamiento no logra alcanzar un nivel similar al de sujetos normopeso, pero se mantiene estable cinco años después de la operación (Aron-Wisnewsky *et al.*, 2019).

La composición taxonómica de la microbiota intestinal también se modifica después del tratamiento quirúrgico. El cambio más comúnmente reportado en la mayoría de los estudios en animales (Liou *et al.*, 2013) y en humanos (Kong *et al.*, 2013, Zhang *et al.*, 2009; Furet *et al.*, 2010; Graessler *et al.*, 2013; Davies *et al.*, 2019), es una disminución en la abundancia relativa de *Firmicutes* y un aumento en *Bacteroidetes*, y *Proteobacteria*. Las proteobacterias proliferan debido al aumento del pH luminal y los altos niveles de oxígeno disuelto que permite el crecimiento de microorganismos aeróbicos facultativos e inhibe el de los anaeróbicos (Medina *et al.*, 2017). En general, la disminución de la acidez gastrointestinal favorece la presencia de *Akkermansia*

muciniphila, *E. coli* y *Bacteroides* spp. o especies de bacterias típicamente asociadas con la microbiota oral (Anhê *et al.*, 2017).

Algunos estudios también han investigado las alteraciones funcionales de la microbiota intestinal después de la cirugía bariátrica (Debédát *et al.*, 2019; Davies *et al.*, 2019; Strohmayer *et al.*, 2010). De acuerdo con análisis de genes y de rutas metabólicas, tomando como referencia la Enciclopedia de genes y genomas de Kyoto (KEGG), la cirugía conduce a cambios en el metabolismo microbiano intestinal con respecto a la utilización de carbohidratos, captación de aminoácidos, metabolismo de purinas o ácidos grasos, y en el transporte de nutrientes esenciales como tiamina, vitamina B12, manganeso, hierro y zinc (Tremaroli *et al.*, 2015; Palleja *et al.*, 2016; Murphy *et al.*, 2017).

La deficiencia de micronutrientes es frecuentemente reportada después de la cirugía, con una incidencia de hasta el 50% en los seguimientos a mediano y largo plazo (Stein *et al.*, 2014). Las variables subyacentes asociadas a las deficiencias postoperatorias de vitaminas y minerales están relacionadas tanto con la cirugía como con el paciente (Patel *et al.*, 2017), en donde la absorción de micronutrientes (especialmente vitamina B12) es inadecuada debido principalmente a una menor secreción de jugo gástrico como resultado del bypass al intestino distal en el procedimiento de BGYR (Poitou *et al.*, 2007).

Sin embargo, consistente con los reportes de una correlación negativa entre vitamina B12 y obesidad, en los pacientes candidatos a cirugía también se ha observado un déficit basal de al menos alguna vitamina o mineral incluyendo la vitamina B12 (Frame-Peterson *et al.*, 2017; Al-Mutawa *et al.*, 2018; Sánchez *et al.*, 2016; Sherf Dagan *et al.*, 2016; Krzizek *et al.*, 2018). La Tabla 1 presenta las deficiencias nutricionales más

Tabla 1. Deficiencias de micronutrientes previas a la cirugía bariátrica. (Frame-Peterson *et al.*, 2017)

Micronutriente	Prevalencia de deficiencias
Vitamina D	65—93%
Hierro	13—47%
Vitamina B12	4—13%
Folato	0—32%

comunes y su prevalencia documentada en pacientes antes de la cirugía (Frame-Peterson *et al.*, 2017). Cabe mencionar que a la fecha son pocos los datos que se conocen sobre las consecuencias de la insuficiencia aguda y/o crónica de micronutrientes, en particular de la vitamina B12, sobre el ecosistema bacteriano del intestino (Guetterman *et al.*, 2021).

Justificación

Diversos estudios han reportado asociaciones inversas entre el IMC y las concentraciones en circulación de algunos micronutrientes. La deficiencia de vitamina B12 es una de las consecuencias más frecuentemente observadas en pacientes con obesidad después del tratamiento con cirugía bariátrica, sin embargo, dado que estas deficiencias se pueden encontrar desde la etapa pre-cirugía, la malabsorción ocasionada por el tratamiento no explica en su totalidad los niveles bajos de esta vitamina en circulación. Por ello, es necesario contemplar otros factores que puedan contribuir a estas observaciones. Se ha sugerido que la microbiota intestinal puede sintetizar esta vitamina o utilizar la que proviene de la dieta del hospedero, por lo que es factible que la microbiota esté también relacionada con los niveles de vitamina B12 en circulación. Debido a que a la fecha no existen reportes que describan la posible asociación de la microbiota intestinal con la ingesta de vitamina B12 y con la concentración circulante de esta vitamina antes y después de la cirugía bariátrica, en el presente trabajo se busca investigar esta relación a partir del análisis de la microbiota intestinal de sujetos normopeso o con obesidad, y una ingesta alta o baja de vitamina B12, para posteriormente evaluar si la microbiota diferenciada por nivel de ingesta, tiene relación con los niveles circulantes de vitamina B12 antes y después de la cirugía bariátrica.

Hipótesis

- Los sujetos con una ingesta baja de vitamina B12 presentarán un perfil de microbiota intestinal con vías metabólicas enriquecidas para la síntesis de esta vitamina, mientras que los sujetos con una ingesta elevada presentarán un perfil de microbiota con vías enriquecidas para la utilización de esta vitamina.
- En pacientes con cirugía bariátrica, los géneros enriquecidos por el nivel de ingesta de vitamina B12 estarán correlacionados con los cambios en los niveles circulantes de esta vitamina, independientemente de la pérdida de peso.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar las diferencias en el perfil y funcionalidad de la microbiota intestinal de acuerdo a la ingesta baja o alta de vitamina B12 en sujetos con obesidad o normopeso. Así mismo, evaluar si los géneros bacterianos diferenciados se encuentran asociados con los niveles circulantes de vitamina B12, antes y después de cirugía bariátrica.

Objetivos específicos

- Evaluar las características bioquímicas, antropométricas y dietéticas de la población de estudio con distintos niveles de ingesta de vitamina B12.
- Determinar las diferencias en la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal entre sujetos con distinto nivel de ingesta de vitamina B12 en un mismo estado nutricional.
- Analizar la asociación de la microbiota intestinal diferenciada por una ingesta baja o alta de vitamina B12, con los niveles circulantes de esta vitamina antes y después de la cirugía bariátrica.

Metodología

a) Poblaciones de estudio

En En este trabajo participaron 209 adultos captados como parte del Estudio de Cohorte de Trabajadores de la Salud (HWCS, por sus siglas en inglés), mediante una colaboración con el Dr. Rafael Velázquez del Instituto Nacional de Medicina Genómica. Las características antropométrica y bioquímicas de esta cohorte han sido descritas anteriormente en diversos artículos (Denova-Gutiérrez *et al.*, 2010; Denova-Gutiérrez *et al.*, 2016). Adicionalmente, participaron 20 pacientes con obesidad sometidos a cirugía laparoscópica de bypass gástrico en Y de Roux (BGYR) del Programa de Cirugía Bariátrica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición en la Ciudad de México, mediante una colaboración con la Dra. Marcela Rodríguez. Algunas características antropométricas y bioquímicas de este grupo de pacientes se han descrito previamente (López-Montoya *et al.*, 2022; López, 2022).

b) Evaluación antropométrica

Los parámetros antropométricos de peso y estatura fueron medidos por personal capacitado siguiendo procedimientos estandarizados y empleando equipo calibrado (Denova-Gutiérrez *et al.*, 2010). El índice de masa corporal (IMC) se calculó como el peso (Kg) dividido por la altura al cuadrado (m). Para determinar el estado nutricional se consideró la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (OMS, 2021): normopeso $18.5 < \text{IMC} < 25 \text{ kg/m}^2$ y obesidad $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$. Para los pacientes sometidos a BGYR, todas las mediciones fueron tomadas por nutricionistas de un equipo multidisciplinario, previo a la cirugía y 12 meses después de la intervención.

c) Evaluación de la ingesta dietética habitual

Para evaluar la ingesta dietética habitual de la población con obesidad y normopeso, se utilizó un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos (CFCA) previamente validado en población mexicana (Hernández-Ávila *et al.*, 1998). Este cuestionario evalúa la ingesta de 116 alimentos durante el año anterior. Para calcular la ingesta diaria promedio de energía, macronutrientes y vitaminas, los datos del CFCA fueron capturados y computados a través del software del Sistema de Evaluación de Hábitos Nutricionales e Ingesta de Nutrientes, con base en las tablas de

composición de alimentos compiladas por el Instituto Nacional de Salud Pública (Hernández-Ávila *et al.*, 2003).

d) Definición de los grupos de estudio para evaluar las diferencias en la microbiota intestinal por nivel de ingesta de vitamina B12

A partir del grupo inicial de 209 adultos pertenecientes al Estudio de Cohorte de Trabajadores de la Salud, se excluyeron 90 participantes que tuvieron al menos uno de los siguientes criterios: ingesta energética diaria menor a 500 Kcal o mayor a 5000 Kcal, diagnóstico previo de diabetes o con un valor de glucosa en ayuno ≥ 126 mg/dL, IMC correspondiente a peso bajo o sobrepeso. De esta manera, la población de sujetos normopeso y con obesidad quedó conformada por 117 participantes.

De los 117 participantes 72 estuvieron en la categoría de normopeso y 45 tuvieron obesidad. Debido a que la edad es un factor que afecta la ingesta de vitamina B12, se calcularon los terciles de edad y se formaron 3 subgrupos en cada categoría. De cada subgrupo se obtuvieron los terciles de ingesta de vitamina B12 y se seleccionaron únicamente los sujetos incluidos en los extremos, quedando una población total de 77 participantes dividida en cuatro grupos de estudio (Figura 2). Después de esta selección, se eliminaron 2 sujetos debido a que su secuenciación del gen 16S rRNA no cumplió con los controles de calidad requeridos. Los puntos de corte utilizados y el número de sujetos que conformaron cada grupo se presenta en la Tabla 2.

Estos grupos fueron empleados para investigar las diferencias que los distintos niveles de ingesta de Vitamina B12 podrían tener en los parámetros antropométricos, bioquímicos y dietéticos, así como también sus posibles efectos en la microbiota intestinal a nivel de género.

e) Determinaciones bioquímicas

Se recolectaron muestras de sangre después de 8-12 horas de ayuno nocturno para determinar los niveles séricos de glucosa, colesterol total, triglicéridos, colesterol LDL y colesterol HDL. En la población con cirugía bariátrica se determinaron también los niveles séricos de vitamina B12. Todas las determinaciones se realizaron siguiendo procedimientos estandarizados (Denova-Gutiérrez *et al.*, 2016).

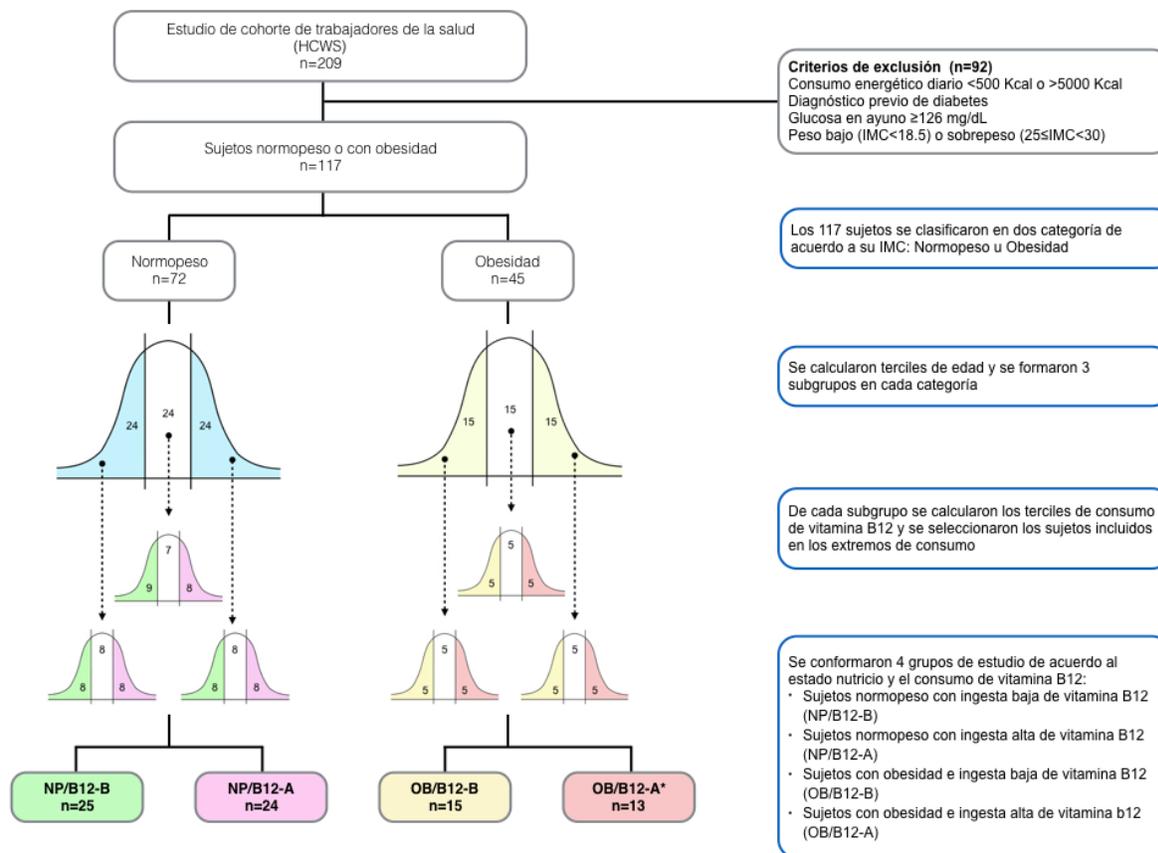


Figura 2. Selección de los grupos de estudio por nivel de ingesta de vitamina B12.

*Se eliminaron 2 sujetos debido a que su secuenciación del gen 16S rRNA no cumplió con el control de calidad requerido.

Tabla 2. Puntos de corte de la ingesta de vitamina B12 para la definición de los grupos de estudio

Normopeso				Obesidad			
NP/B12-B (n=25)		NP/B12-A (n=24)		OB/B12-B (n=15)		OB/B12-A (n=13)	
Sujetos normopeso con ingesta baja de vitamina B12		Sujetos normopeso con ingesta alta de vitamina B12		Sujetos con obesidad e ingesta baja de vitamina B12		Sujetos con obesidad e ingesta alta de vitamina B12	
Rangos de edad (años)	Puntos de corte de la ingesta de vitamina B12 ($\mu\text{g/d}$)	Rangos de edad (años)	Puntos de corte de la ingesta de vitamina B12 ($\mu\text{g/d}$)	Rangos de edad (años)	Puntos de corte de la ingesta de vitamina B12 ($\mu\text{g/d}$)	Rangos de edad (años)	Puntos de corte de la ingesta de vitamina B12 ($\mu\text{g/d}$)
27-49	1.77	20-51	2.79	21-48	2.07	27-50	2.47
53-62	1.25	54-62	1.75	54-62	1.55	53-60	2.49
63-81	0.93	64-74	2.49	65-74	1.03	63-72	3.15

f) Muestreo de heces y extracción de ADN bacteriano

Se solicitó a los participantes la recolección de una muestra de materia fecal en un recipiente de polipropileno estéril siguiendo las instrucciones recomendadas para evitar la contaminación. Se almacenaron alícuotas de 180-220 mg a -70 °C hasta su procesamiento. El ADN se extrajo de las alícuotas utilizando QIAamp® DNA Stool o Power fecal kit (Qiagen, Inc) conforme a las instrucciones del fabricante, añadiendo un paso previo de lisis mecánica de la muestra con un dispositivo FastPrep. El volumen de elución final fue de 200 µl y se almacenó a -20 °C hasta su análisis. La concentración y la pureza del ADN se determinaron mediante espectrofotometría (Nanodrop 2000c), y se determinó una estimación de la pureza de la muestra midiendo la relación de absorbancia A260/A280 (López-Montoya *et al.*, 2022; López, 2022).

g) Secuenciación del gen rARN 16S

Se secuenciaron muestras de ADN bacteriano provenientes de 36 sujetos normopeso y 17 sujetos con obesidad usando los cebadores 515F y 806R de la región hipervariable V4 del gen 16S rARN como se ha descrito anteriormente (Morán-Ramos *et al.*, 2020). Las muestras restantes de 17 sujetos normopeso, 11 sujetos con obesidad y de 20 pacientes con BGYR antes y a los 12 meses después de la cirugía se secuenciaron por amplificación de la región V3-V4 del gen 16S rARN, siguiendo el protocolo para la preparación de bibliotecas de Illumina. Brevemente, se ejecutó una primera PCR en 100 ng de ADN utilizando los cebadores con adaptadores unidos en los extremos. Los amplicones se purificaron utilizando perlas AMPure XP (Beckman Coulter) y se cuantificaron con un fluorómetro Qubit 3.0 (Invitrogen). Se ejecutó una segunda PCR empleando el kit Nextera XT Index (Illumina) para la incorporación de códigos de barras moleculares y los adaptadores de secuenciación de Illumina. Las bibliotecas resultantes se purificaron y cuantificaron de acuerdo a la metodología antes descrita, el tamaño de los amplicones y las concentraciones se evaluaron con Agilent D1000 ScreenTape para 4200 TapeStation System (Agilent Technologies). (López-Montoya *et al.*, 2022). Ambos protocolos para la secuenciación de las regiones del gen 16S rARN se realizaron en la Unidad de Secuenciación del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) utilizando la plataforma Illumina MiSeq. Es importante mencionar que las muestras incluidas en este estudio forman parte de un proyecto en el

que se busca evaluar la asociación de la microbiota intestinal con la obesidad y complicaciones metabólicas en sujetos con y sin cirugía bariátrica, por lo que algunas de las muestras de este estudio formaron parte de una Tesis de Maestría para el estudio de la asociación de la microbiota intestinal con la dislipidemia aterogénica (López, 2022).

h) Procesamiento de secuencias

Las secuencias pareadas obtenidas en la plataforma Illumina se procesaron con los módulos de la plataforma de QIIME2 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology 2) (Bolyen *et al.*, 2019). Las lecturas de la región V3-V4 se recortaron en la posición 194 en el extremo 5' de la hebra molde y las lecturas de la hebra complementaria se recortaron en la posición 20 en 5', con truncamiento en la posición 240 en 3'. Las lecturas de la región V4 se recortaron en la posición 20 en 5' de la hebra molde, y las de la hebra complementaria en la posición 38 en el extremo 5', con truncamiento en la posición 220 en 3'. Las lecturas obtenidas de los protocolos de secuenciación V3-V4 y V4 compartieron un segmento de 220 pb el cual fue utilizado para todos los análisis. Posteriormente se realizó la corrección de errores y eliminación de ruido para determinar los ASVs (variantes de secuencia de amplicón) con el módulo DADA2 (Callahan *et al.*, 2016), removiendo las secuencias quiméricas con el método "consensus". Después de la resolución, los ASV se agruparon en unidades taxonómicas operativas (OTU) con una identidad del 97 % mediante el complemento "cluster-features-open-reference" con el algoritmo V-SEARCH (Rognes *et al.*, 2016) y la base de datos SILVA (v.132). Se construyó la filogenia de las secuencias representativas de los OTUs con el módulo align-to-tree-mafft-fasttree, el cual utiliza el algoritmo de MAFFT (Kato, 2002) para el alineamiento y FastTree2 (Price *et al.*, 2010) para la construcción del árbol filogenético. Las muestras se estandarizaron por rarefacción a una profundidad de 19,000 lecturas, con un total de 2,261,000 lecturas.

i) Análisis bioinformático

La tabla de abundancia de OTUs y la filogenia se exportaron al entorno de programación R (v. 4.1.1.), para su posterior análisis con el paquete phyloseq (v. 1.38.0) (McMurdie y Holmes, 2013). La diversidad alfa se evaluó con el número de OTUs

observados y los índices de Shannon, Chao1 y Simpson. Se utilizaron métricas de distancia UniFrac ponderadas y no ponderadas para estimar la diversidad beta.

Las diferencias a nivel de género en la composición microbiana de los grupos con diferente nivel de ingesta de vitamina B12 se evaluaron mediante el análisis de tamaño del efecto del discriminante lineal (LEfSe v1.0) (Segata *et al.*, 2011). Se consideró un resultado estadísticamente significativo cuando se obtuvo una puntuación LDA (LDA Score) > 2.0 y $P < 0.05$. Para obtener el perfil de predicción funcional de la microbiota se utilizó PICRUSt2 (Investigación filogenética de comunidades mediante la reconstrucción de estados no observados; Versión 2.2.0) (Douglas *et al.*, 2020). Las rutas metabólicas fueron anotadas por la base de datos MetaCyc (Caspi *et al.*, 2018), y las diferencias entre los grupos con ingestas distintas de vitamina B12 se evaluaron utilizando LEfSe v1.0. El enriquecimiento de vías metabólicas con puntuación LDA > 2.0 y $P < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

Se utilizaron los valores en circulación de vitamina B12 de los pacientes con cirugía bariátrica para probar una posible correlación con la abundancia de los géneros que se encontraron enriquecidos entre los grupos de ingesta. Este posible efecto se evaluó mediante un modelo lineal (MaAsLin2 v1.4.0) (Mallick *et al.*, 2020). Los análisis en MaAsLin2 se realizaron utilizando los parámetros predeterminados, considerando sólo aquellos géneros con una prevalencia mayor o igual al 75% en al menos uno de los tiempos de evaluación. Todas las gráficas se crearon usando R (v4.1.1).

j) Análisis estadístico

Se utilizaron los programas R v 4.1.3 y SPSS v24. Se empleó la prueba de Shapiro-Wilk para verificar la distribución normal de los parámetros antropométricos, bioquímicos y dietéticos en cada grupo o tiempo de estudio. Se realizó la prueba U de Mann-Whitney para comparar variables con distribución no normal entre sujetos con obesidad y sujetos normopeso, y la prueba de rangos con signo de Wilcoxon para las comparaciones antes y después de cirugía bariátrica. Se utilizó la prueba t de Student de dos colas para comparar las variables con distribución normal y la prueba X^2 para comparar la distribución de variables categóricas. Las diferencias en la diversidad alfa se analizaron por la prueba de suma de rangos de Wilcoxon. Las diferencias en la diversidad beta se probaron por un análisis de varianza multivariante permutacional

(PERMANOVA), usando el paquete vegan (v2.5.7), aplicando la función adonis y 9999 permutaciones (Lozupone *et al.*, 2011). Para los análisis de microbiota en la población con cirugía bariátrica, únicamente se probaron los géneros enriquecidos en las comparaciones de los grupos con distinta ingesta de vitamina B12. Las diferencias en abundancia entre los dos tiempos de evaluación se analizaron mediante una prueba U de Mann-Whitney. Cuando se aplicó un ajuste a las pruebas estadísticas, este fue realizado por el método de Benjamini-Hochberg. En todos los casos se consideró significancia estadística cuando $P < 0.05$.

Resultados y discusión

1) Características antropométricas, bioquímicas y dietéticas de los sujetos con distinto nivel de ingesta de vitamina B12

Las características antropométricas, bioquímicas y dietéticas de los sujetos normopeso y con obesidad, acorde a una ingesta baja o alta de Vitamina B12 se presentan en la Tabla 3. Entre los grupos con un mismo estado nutricional (normopeso o con obesidad), no se observaron diferencias significativas al comparar una ingesta alta y baja de Vitamina B12, excepto para el peso e IMC, los cuales fueron significativamente mayores en los sujetos normopeso con ingesta alta de vitamina B12 (NP/B12-A) comparados con normopeso y una ingesta baja de esta vitamina (NP/B12-B).

Al comparar grupos con un mismo nivel de ingesta de vitamina B12 sin considerar el estado nutricional, se observó que entre los grupos de ingesta baja de vitamina B12, los sujetos con obesidad presentaron niveles circulantes de triglicéridos significativamente más elevados que los sujetos normopeso. Además, entre los sujetos con una ingesta elevada de vitamina B12, se observaron niveles de glucosa significativamente más altos en el grupo con obesidad (OB/B12-A), comparando con los sujetos normopeso. La comparación entre los cuatro grupos de estudio permitió identificar que los sujetos con obesidad e ingesta alta de vitamina B12 (OB/B12-A) presentaron los niveles de glucosa más elevados; aunque las diferencias solo fueron significativas al comparar con los grupos de sujetos normopeso con o sin una ingesta elevada de vitamina B12. En contraparte, el grupo normopeso con ingesta baja de vitamina B12 (NP/B12-B) presentó niveles de triglicéridos más bajos, pero con diferencias significativas solo al compararlos con sujetos con obesidad, sin importar la ingesta de vitamina B12. Estos hallazgos son consistentes con la presencia de complicaciones metabólicas, particularmente aumento en los niveles de triglicéridos, comúnmente observadas en sujetos con obesidad (Klop *et al.* 2013; Feingold 2020). En contraste, aunque se ha reportado una correlación negativa y significativa entre la ingesta a largo plazo de vitamina B12 y los niveles de triglicéridos (Maddock *et al.*, 2019), en el presente estudio no se identificaron diferencias en el perfil lipídico al comparar sujetos con un mismo estado nutricional y con una ingesta alta o baja de vitamina B12. Estas inconsistencias podrían ser explicadas, al menos en parte, por las diferencias en el diseño de los grupos de los diferentes estudios, aunque

en el presente trabajo se determinó la ingesta habitual de vitamina B12, las determinaciones del perfil lipídico solo se realizaron en un tiempo, por lo que es necesario evaluar ambas variables en estudios longitudinales, que permitan confirmar la relación entre la ingesta de esta vitamina y los niveles de triglicéridos.

Tabla 3. Características antropométricas, bioquímicas y dietéticas de los grupos de estudio

Características	Grupo			
	NP/B12-B (n=25)	NP/B12-A (n=24)	OB/B12-B (n=15)	OB/B12-A (n=13)
% Mujeres	92.0% ^a	66.7% ^b	60.0% ^b	76.9% ^{a, b}
Edad (años)	54.7 ± 14.6	55.9 ± 12.8	52.8 ± 17.2	55.9 ± 14.7
Peso (Kg)	53.2 ± 6.4 ^a	58.6 ± 9.1 ^b	85.1 ± 12.8 ^c	85.0 ± 15.6 ^c
Talla (cm)	153.6 ± 7.3	157.8 ± 9.5	157.1 ± 11.2	158.4 ± 12.6
IMC (Kg/m ²)	22.5 (22.0 – 23.5) ^a	23.6 (23.2 – 24.3) ^b	33.4 (31.0 – 39.5) ^c	32.2 (31.1 – 39.3) ^c
Glucosa (mg/dL)	93.2 ± 10.2 ^a	94.5 ± 8.3 ^a	99.7 ± 11.2 ^{a, b}	107.5 ± 12.7 ^b
Colesterol total (mg/dL)	197.7 ± 50.5	200.7 ± 38.6	185.5 ± 42.4	182.0 ± 36.1
C-LDL (mg/dL)	120.7 ± 38.4	115.7 ± 33.1	98.9 ± 37.2	97.1 ± 25.7
C-HDL (mg/dL)	48.7 (37.8 – 61.2)	50.6 (43.4 – 62.0)	41.5 (36.4 – 53.0)	51.8 (36.9 – 59.1)
Triglicéridos (mg/dL)	106.0 (93.0 – 139.5) ^a	139.0 (99.0 – 187.0) ^{a, b}	179.0 (120.0 – 287.0) ^b	167.0 (126.5 – 226.5) ^b
Calorías (Kcal/d)	1103.4 (840.3 – 1477.7) ^a	1781.5 (1436.2 – 2169.4) ^b	1159.6 (973.4 – 1490.4) ^a	2003.5 (1518.7 – 2835.3) ^b
Cobalamina (B12) (µg/d)	0.9 (0.6 – 1.2) ^a	3.3 (2.6 – 5.1) ^b	1.2 (0.8 – 1.5) ^c	4.4 (3.4 – 5.7) ^b

Los parámetros con distribución normal se presentan con la media ± DE, los datos con distribución no normal se presentan con la mediana (rangos intercuartiles 25–75). Pruebas estadísticas realizadas: prueba t-Student y U de Mann-Whitney, de acuerdo con la distribución de la variable. Se consideró una diferencia significativa cuando $p < 0.05$. Las medias o medianas seguidas de una letra común no son significativamente distintas. NP/B12-A=Normopeso con ingesta alta de vitamina B12, NP/B12-B=Normopeso con ingesta baja de vitamina B12, OB/B12-A=Obesidad con ingesta alta de vitamina B12, OB/B12-B=Obesidad con ingesta baja de vitamina B12. IMC=Índice de Masa Corporal, C-LDL=Lipoproteínas de baja densidad, C-HDL=Lipoproteínas de alta densidad.

En conjunto, los presentes resultados sugieren que las diferencias observadas en los parámetros bioquímicos se relacionan en mayor medida a la presencia de obesidad y no con diferencias en la ingesta de vitamina B12.

En cuanto a las características de la ingesta dietética, se observa que al comparar la ingesta de macronutrientes y micronutrientes (incluyendo otras vitaminas B), los grupos con ingesta baja de vitamina B12 presentaron una ingesta significativamente menor de la gran mayoría de los nutrientes analizados, independientemente del estado nutricional (Tabla 3, Tabla suplementaria 1). Estos hallazgos están en línea con los observados en un estudio con una población de 61,445 mujeres en edad postmenopáusica que se estratificó acorde a la ingesta de vitamina B6 y B12, en donde se encontró que aquellas pertenecientes a los quintiles de mayor ingesta de vitamina B12 también presentaron una ingesta alta de otros micronutrientes (Meyer *et al.*, 2019). Lo anterior sugiere que el análisis de la dieta habitual dificulta la evaluación por separado de un sólo nutriente, por lo que se requieren estudios donde se controle la ingesta de esta vitamina, ya sea por modificaciones dietéticas o suplementación, que permitirán confirmar los hallazgos de los estudios observacionales.

2) Diversidad alfa y beta de la microbiota intestinal, entre distintos niveles de ingesta de vitamina B12

Se realizó un análisis comparativo de la diversidad alfa entre los grupos de estudio, mediante el número de OTUs observados y los índices de Chao1, Shannon y Simpson (Figura 3). De manera interesante, el grupo con obesidad y una ingesta baja de vitamina B12 (OB/B12-B) presentó una menor diversidad en los cuatro índices, y aunque estos resultados no alcanzaron significancia, sugieren que la diversidad microbiana se ve disminuida en número de especies, particularmente en presencia de ambos, obesidad y una ingesta baja de vitamina B12. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos en mujeres lactantes y en hombres veteranos, los cuales reportaron que una mayor ingesta de vitamina B12 se asocia con una mayor diversidad alfa (Carrothers *et al.*, 2015; Gurwara *et al.*, 2019; Asnicar *et al.*, 2021).

Al hacer este mismo análisis agrupando a los sujetos sólo por estado nutricional y sin considerar su ingesta de vitamina B12 (Figura 4), no se observan diferencias significativas para ninguna de las cuatro medidas de diversidad alfa analizadas.

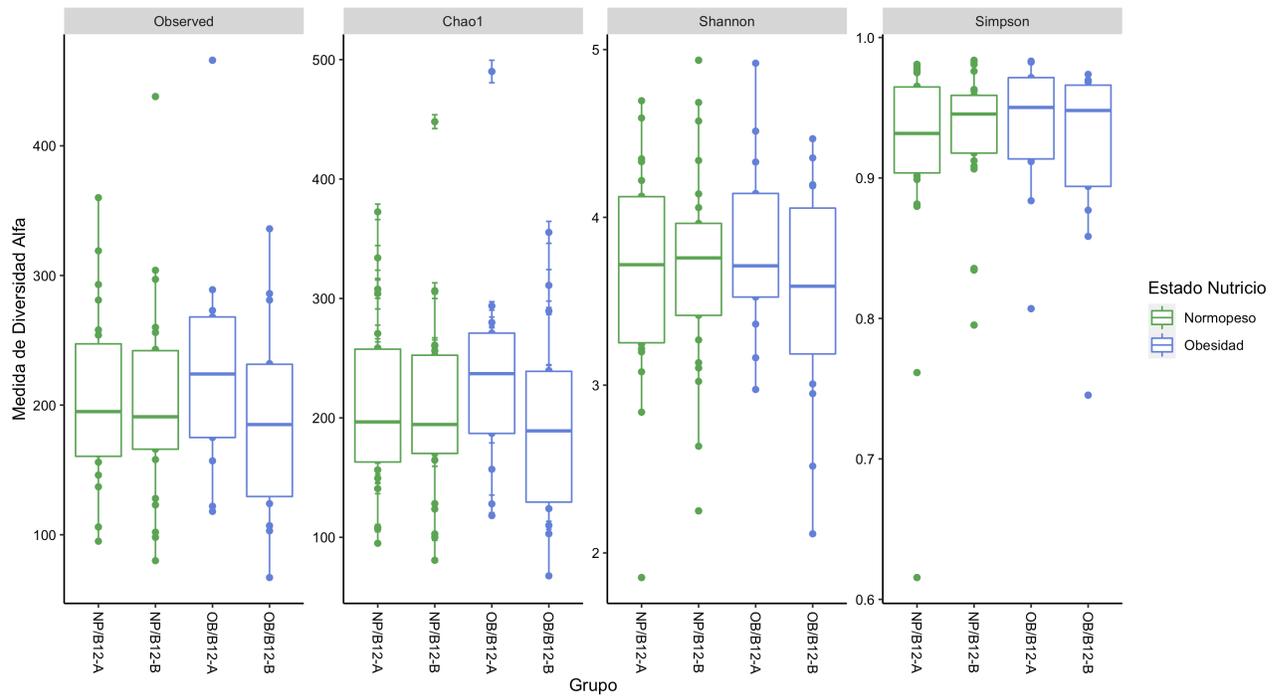


Figura 3. Estimaciones de diversidad alfa por grupo de estudio.

Las diferencias significativas se encuentran señaladas por *. Se consideró un resultado significativo cuando $P < 0.05$ por la prueba de suma de rangos de Wilcoxon. NP/B12-A=Normopeso con ingesta alta de vitamina B12, NP/B12-B=Normopeso con ingesta baja de vitamina B12, OB/B12-A=Obesidad con ingesta alta de vitamina B12, OB/B12-B=Obesidad con ingesta baja de vitamina B12.

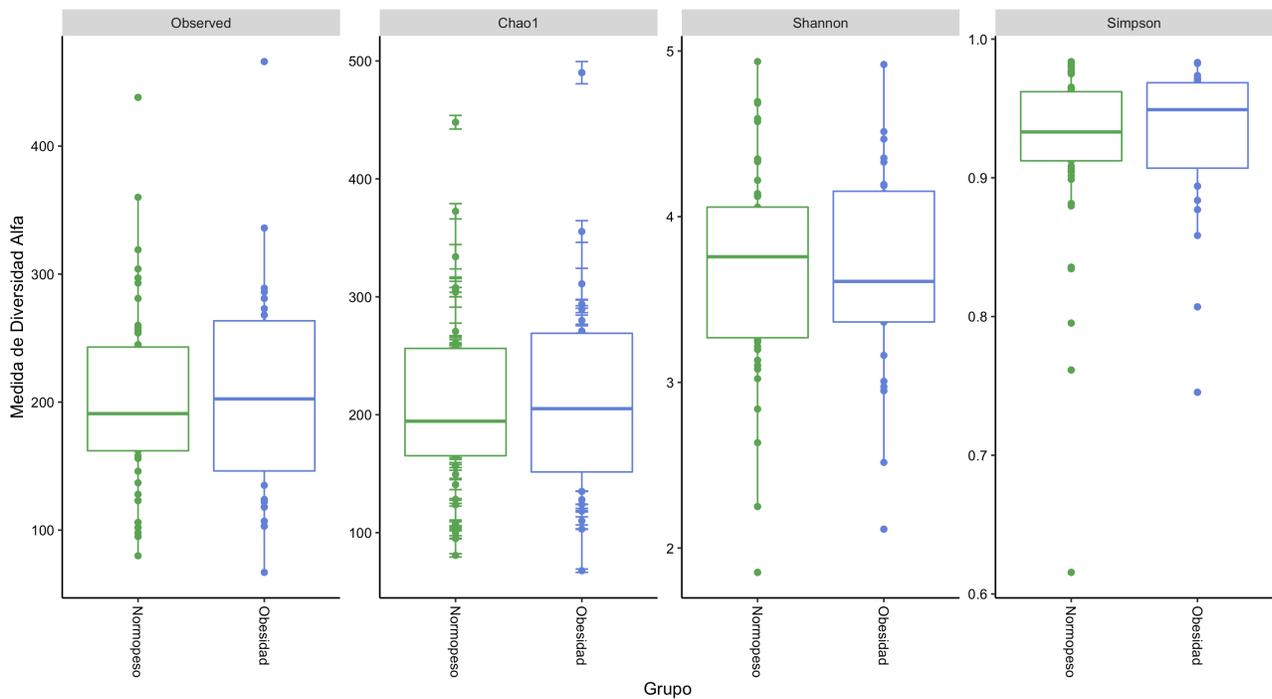


Figura 4. Estimaciones de diversidad alfa por estado nutricional.

Las diferencias significativas se encuentran señaladas por *. Se consideró un resultado significativo cuando $P < 0.05$ por la prueba de suma de rangos de Wilcoxon.

Tabla 4. Comparaciones de diversidad beta entre los grupos de estudio.

Las diferencias significativas se encuentran resaltadas en negritas. Se consideró un resultado significativo cuando $P < 0.05$ mediante un PERMANOVA. NP/B12-A=Normopeso con ingesta alta de vitamina B12, NP/B12-B=Normopeso con ingesta baja de vitamina B12, OB/B12-A=Obesidad con ingesta alta de vitamina B12, OB/B12-B=Obesidad con ingesta baja de vitamina B12.

a) Análisis PERMANOVA por pares de las distancias UniFrac ponderadas

Comparación	R ²	p
NP/B12-A vs NP/B12-B	0.032	0.561
OB/B12-A vs OB/B12-B	0.014	0.733

b) Análisis PERMANOVA por pares de las distancias UniFrac no ponderadas

Comparación	R ²	p
NP/B12-A vs NP/B12-B	0.030	0.878
OB/B12-A vs OB/B12-B	0.015	0.948

Las comparaciones de diversidad beta entre los grupos de estudio no muestran diferencias significativas (Tabla 4), consistente con el estudio de Carrothers y colaboradores en mujeres lactantes y con otros estudios en población infantil, en los cuales no se observaron diferencias en la diversidad beta entre grupos con distinta ingesta de vitamina B12 (Carrothers *et al.*, 2015; Herman *et al.*, 2010; Boran *et al.*; 2020). Sin embargo, Gurwara y colaboradores reportaron diferencias significativas en la diversidad beta al comparar hombres con una ingesta alta y baja de vitamina B12 (Gurwara *et al.*, 2019). Las inconsistencias entre los resultados de los distintos trabajos pueden ser explicadas, al menos en parte, por las características de cada población de estudio como son edad, sexo y estado fisiológico específico (lactancia), por lo que se requieren estudios adicionales para evaluar el efecto de la vitamina B12 en la diversidad beta.

3) Géneros de la microbiota intestinal enriquecidos en los grupos de estudio

A continuación se describen los filos más abundantes en cada grupo de estudio: los 5 filos más abundantes en sujetos normopeso y baja ingesta de vitamina B12 (NP/B12-B) fueron *Firmicutes* (48.2%), *Bacteroidetes* (41.4%), *Proteobacteria* (6.3%), *Cyanobacteria* (1.2%) y *Tenericutes* (1.0%), mientras que en el grupo NP/B12-A fueron *Firmicutes* (47.3%), *Bacteroidetes* (43.3%), *Proteobacteria* (5.6%), *Verrucomicrobia* (2.1%) y *Tenericutes* (0.9%). Por otra parte, en los sujetos con obesidad e ingesta baja de vitamina B12 (OB/B12-B) los filos más abundantes fueron *Firmicutes* (50.5%),

Bacteroidetes (42.0%), *Proteobacteria* (4.3%), *Verrucomicrobia* (1.5%) y *Cyanobacteria* (0.7%), mientras que en el grupo OB/B12-A fueron *Firmicutes* (54.6%), *Bacteroidetes* (37.5%), *Proteobacteria* (6.3%), *Tenericutes* (0.9%) y *Actinobacteria* (0.3%). Sin embargo, ninguno de estos filos mostró diferencias significativas al ser comparados por nivel de ingesta de vitamina B12 en un mismo estado nutricional (NP/B12-A vs NP/B12-B y OB/B12-A vs OB/B12-B) (Figura suplementaria 1).

Posteriormente, se realizaron comparaciones a nivel de género de la microbiota intestinal, entre los grupos con ingestas altas y bajas de vitamina B12 en sujetos normopeso (NP/B12-A vs NP/B12-B) y en los sujetos con obesidad (OB/B12-A vs OB/B12-B).

El análisis de LEfSe no identificó géneros diferenciados entre los sujetos con normopeso al estratificar por ingesta de vitamina B12.

En contraste, los géneros *Acidaminococcus*, *Peptococcus*, *Lactobacillus*, *Hungatella* y *Oscillibacter* se encontraron significativamente incrementados en sujetos con obesidad e ingesta alta de vitamina B12 (OB/B12-A), comparados con sujetos con obesidad e ingesta baja de esta vitamina (OB/B12-B) (Figura 5). Es de llamar la atención que todos estos géneros pertenecen al filo *Firmicutes*, el cual presenta la mayor abundancia en el grupo OB/B12-A. Además, los géneros *Acidaminococcus* y *Lactobacillus* también se han encontrado con mayor abundancia en sujetos con obesidad (sin considerar la ingesta de vitamina B12) en comparación con sujetos delgados (Wang *et al.*, 2021; Sugino *et al.*, 2019; Osborne *et al.*, 2020; Palmas *et al.*, 2021; Million *et al.*, 2012).

El análisis predictivo de la función metabólica de la microbiota intestinal no evidenció enriquecimiento en la abundancia de las rutas participantes en la biosíntesis o catabolismo de vitamina B12 (Figura 6, Figura 7). Aunado a ello, los géneros con una abundancia incrementada en presencia de obesidad e ingesta alta de vitamina B12 no parecen contener los genes para expresar una ruta de biosíntesis de cobalamina (Magnúsdóttir *et al.*, 2015), por lo que es poco probable que estos géneros sean productores de vitamina B12, pero se desconoce si tienen la capacidad para utilizarla.

Aunque no existen evidencias que sugieran que los géneros identificados en los sujetos con obesidad y una ingesta elevada de vitamina B12 participan en el

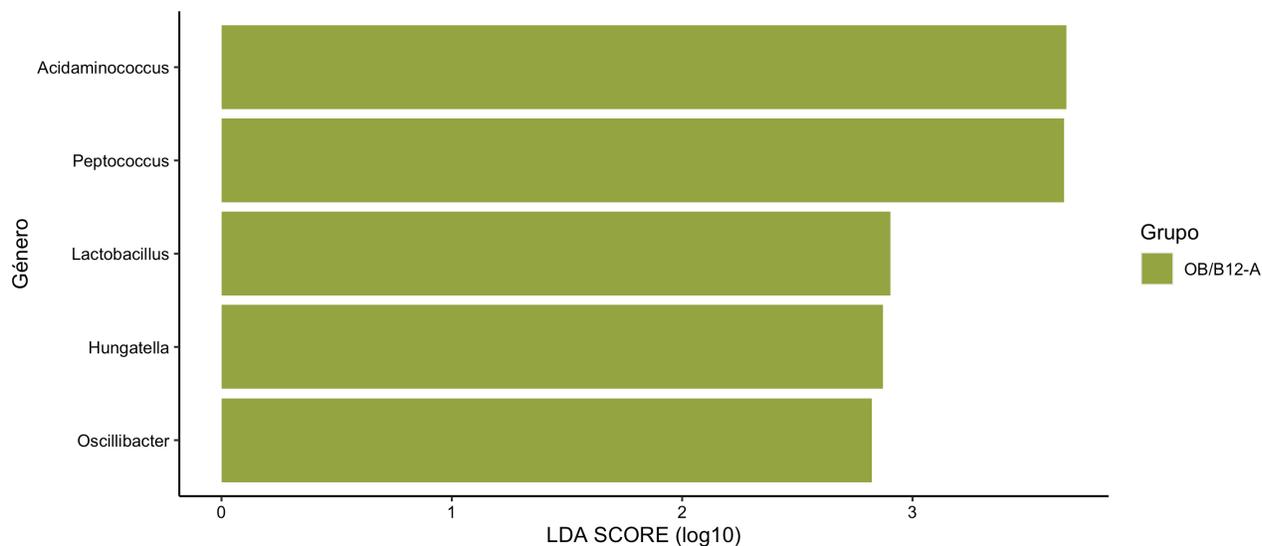


Figura 5. Análisis de LEfSe para la comparación de géneros entre los grupos OB/B12-A y OB/B12-B.

OB/B12-A=Obesidad con ingesta alta de vitamina B12, OB/B12-B=Obesidad con ingesta baja de vitamina B

metabolismo de esta vitamina, algunos de ellos como *Peptococcus*, *Hungatella* y *Oscillibacter* podrían tener funciones importantes en el metabolismo de otros nutrimentos y el desarrollo de obesidad y sus complicaciones metabólicas. En este sentido, el género *Peptococcus* se ha reportado con una mayor abundancia en modelos animales con una dieta alta en fibra (Xu *et al.*, 2020). Además, se ha propuesto que participa en procesos relacionados con la ganancia de peso en modelos animales de obesidad (Clarke *et al.*, 2013). En el presente estudio, la abundancia de este género correlacionó positiva y significativamente con la ingesta de fibra dietética, pero solamente en los dos grupos con obesidad (coef=0.71, p=0.03) (Figura suplementaria 2). El hecho de que el género *Peptococcus* no se haya observado enriquecido entre los grupos normopeso, los cuales presentaron una ingesta similar de fibra dietética, sugiere que el incremento de su abundancia puede ser atribuido a la ingesta elevada de fibra y no a la ingesta de vitamina B12.

Otro de los géneros con abundancia incrementada en los sujetos con obesidad y una ingesta elevada de vitamina B12 es *Hungatella*. De manera interesante, un estudio en ratones colonizados con la microbiota intestinal de una paciente con obesidad y con una dieta de restricción calórica (<800 kcal/día) por 8 semanas, mostró una disminución del género *Hungatella* (Sbierski-Kind *et al.*, 2022), sugiriendo una correlación positiva entre la ingesta calórica y la abundancia de este género. Este comportamiento es

consistente con lo observado en el presente estudio, ya que el enriquecimiento de *Hungatella* se encontró en el grupo con ingesta alta de vitamina B12, que a su vez tuvo una mayor ingesta de calorías.

Finalmente, el género *Oscillibacter* se ha reportado incrementado en ratones con una dieta alta en grasas (Lam *et al.*, 2012), característica que también se observa en el grupo OB/B12-A del presente estudio (Tabla suplementaria 1). De manera notable, un estudio que evaluó la capacidad bacteriana de producir micronutrientes (8 vitaminas B, incluida la B12) mostró que *Oscillibacter* pertenece al fenotipo auxótrofo, es decir, necesita obtener vitamina B12 de su entorno (Radionov *et al.*, 2019), por lo que su mayor abundancia en el grupo con ingesta alta de vitamina B12 puede ser atribuido, en parte, a una mayor disponibilidad de este nutriente. Adicionalmente, este género también se ha asociado con una mayor ingesta de fibra en la dieta (Rosés *et al.*, 2021). Sin embargo, en el presente estudio no presentó una correlación significativa con la ingesta de este nutrimento ($p=0.68$).

Es interesante que los resultados del grupo OB/B12-A son muy similares a los reportados por Asnicar y colaboradores, quienes encontraron correlaciones positivas aunque no significativas entre la ingesta de vitamina B12 y la abundancia de algunas cepas de los géneros *Oscillibacter*, *Lactobacillus* y *Hungatella* (Asnicar *et al.*, 2021). El hecho de que estos géneros se encontraran significativamente enriquecidos en el grupo con una ingesta alta de vitamina B12 y únicamente en sujetos con obesidad, sugiere que aunque el estado nutricional puede modular la abundancia de estas bacterias, la ingesta de vitamina B12 podría potenciar estos efectos.

4) Diferencias en la predicción funcional de la microbiota intestinal entre distintos niveles de ingesta de vitamina B12

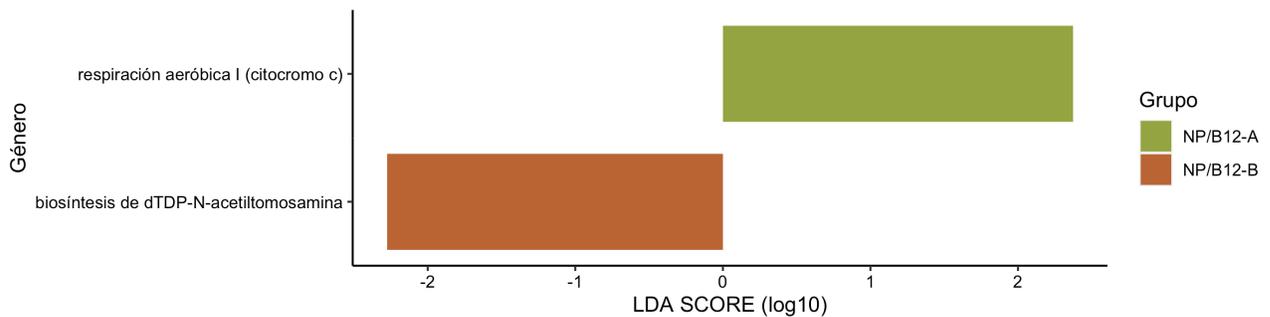
Para identificar las rutas metabólicas que podrían tener un enriquecimiento distinto de acuerdo al nivel de ingesta de Vitamina B12, se realizaron análisis de discriminación lineal (LEfSe) entre los sujetos con una ingesta alta y aquellos con una ingesta baja de esta vitamina, en un mismo estado nutricional.

La comparación entre los grupos normopeso con una ingesta alta vs. una ingesta baja de vitamina B12, identificó enriquecida la vía de respiración aeróbica I (citocromo c) en sujetos con ingesta alta de vitamina. Por otra parte, la vía de biosíntesis de dTDP-

N-acetiltomosamina estuvo enriquecida en los sujetos con ingesta baja de vitamina B12 (Figura 6a). De estas vías, la única que potencialmente podría involucrar la participación de la vitamina B12 es la vía de la respiración aeróbica I (citocromo c).

La respiración aeróbica es un proceso mediante el cual los electrones pasan de un donador de electrones a un receptor de electrones terminal (el oxígeno). La transferencia de electrones se lleva a cabo por una serie de complejos de transportadores también conocidos como complejos I-IV (cadena de transporte de electrones o cadena respiratoria). El complejo I acepta electrones de NADH y el complejo II del succinato. Este flujo de electrones conduce a una serie de reacciones cuya finalidad es la síntesis de ATP (Foerster, 2013). La vitamina B12 podría tener una

a)



b)

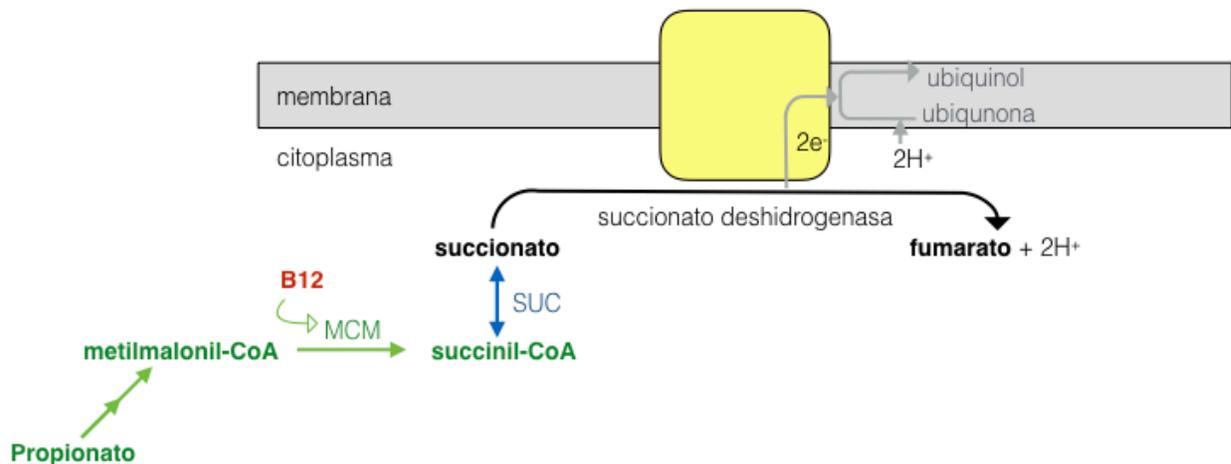


Figura 6. Análisis de LefSe para la comparación de rutas metabólicas entre los grupos NP/B12-A y NP/B12-B.

NP/B12-A=Normopeso con ingesta alta de vitamina B12, NP/B12-B= Normopeso con ingesta baja de vitamina B12. a) Gráfico de LefSe para la comparación entre los grupos NP/B12-A y NP/B12-B. b) Ruta metabólica correspondiente a la respiración aeróbica I (citocromo c) (Negro), la vitamina B12 podría participar indirectamente en esta ruta a través de su papel en el metabolismo de propionato (verde), generando succinil-CoA, el cual puede ser convertido enzimáticamente a succinato (azul) para su utilización en el complejo II de la respiración aeróbica. SUC=succinato deshidrogenasa, MCM=metilmalonil-CoA mutasa

participación indirecta en este proceso, ya que es requerida por la enzima metilmalonil-CoA mutasa para poder transformar el L-metilmalonil-CoA a succinil-CoA, lo que posteriormente genera succinato, el cual puede ser utilizado por el complejo II (Figura 6b). El enriquecimiento de esta vía en el grupo con mayor ingesta de vitamina B12 sugiere que las bacterias son capaces de utilizar esta mayor disponibilidad de micronutrientes y en consecuencia, favorecer rutas que requieren estas moléculas como cofactores o sustratos. Aunque se desconoce cuál podría ser el papel de la mayor producción de ATP en los sujetos con normopeso e ingesta elevada de vitamina B12, se ha propuesto que el ATP extracelular bacteriano puede regular en el intestino a las células de la respuesta inmune, condicionando la selección de una comunidad microbiana que sea benéfica para el hospedero (Perruzza *et al.*, 2017).

Por otra parte, la comparación entre sujetos con obesidad y distinta ingesta de vitamina B12, mostró ocho rutas enriquecidas en el grupo OB/B12-A, y dos en el grupo OB/B12-B (Figura 7). Ninguna de las vías enriquecidas tiene una relación directa con la vitamina B12 (uso o biosíntesis). Sin embargo, debido a que ambos grupos tuvieron una ingesta significativamente distinta no solo de vitamina B12, sino de todo el grupo de vitaminas B (Tabla suplementaria 1), es factible que las diferencias en la ingesta de otros micronutrientes tenga relación con estos resultados. Un breve ejemplo de este planteamiento es la participación de las enzimas dependientes de piridoxal 5'-fosfato

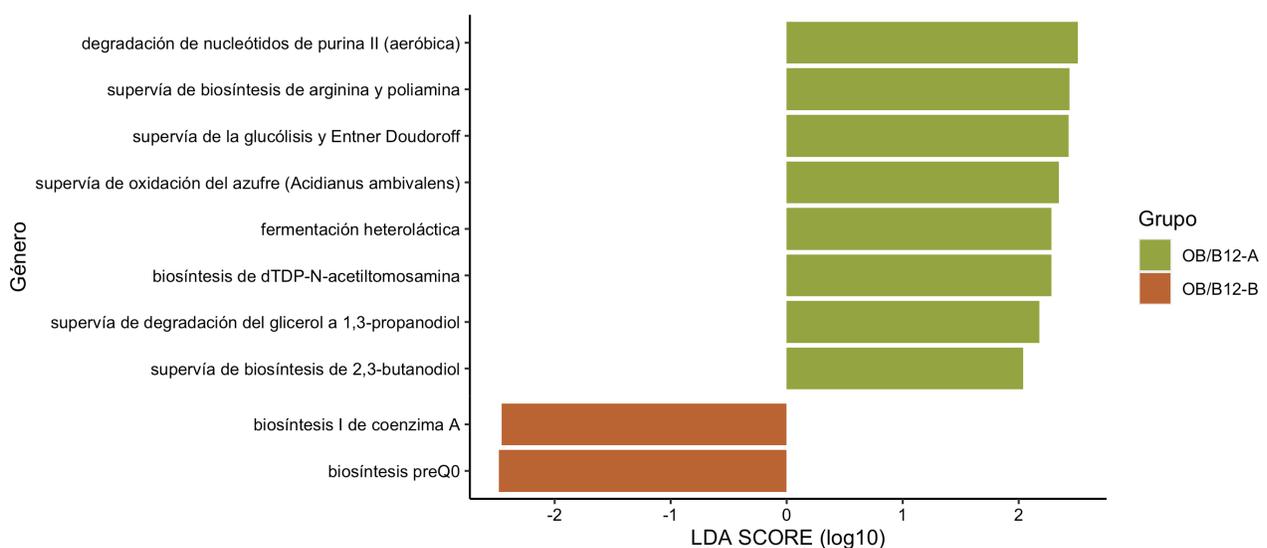


Figura 7. Análisis de LEfSe para la comparación de rutas metabólicas entre los grupos OB/B12-A y OB/B12-B.

OB/B12-A=Obesidad con ingesta alta de vitamina B12, OB/B12-B= Obesidad con ingesta baja de vitamina B12.

(PLP), un derivado de vitamina B6, en la supervía de biosíntesis de arginina y poliamina (Charlier y Glansdorff, 2004).

5) Relación de la microbiota intestinal con los niveles circulantes de vitamina B12 en pacientes con cirugía bariátrica

Las características antropométricas y metabólicas de la población quirúrgica en estudio se presentan en la Tabla 5. A un año post cirugía, se observó una disminución significativa en el peso corporal y el IMC. Los parámetros del metabolismo de carbohidratos y de lípidos presentaron una disminución, con excepción de los niveles de C-HDL, que presentaron un incremento a los 12 meses de realizada la cirugía. El comportamiento de estos parámetros es concordante con el reportado en diversos artículos que describen una mejoría metabólica después de realizada la cirugía (Aron-Wisniewsky *et al.*, 2019; da Silva *et al.*, 2015; Schauer *et al.*, 2017; Bouchwald *et al.*, 2009).

Con respecto a los niveles circulantes de vitamina B12, éstos disminuyeron ligeramente a los 12 meses post cirugía aunque estas variaciones no fueron significativas. De manera interesante, ninguno de los 20 pacientes presentó niveles de

Tabla 5. Características antropométricas y bioquímicas de la población de estudio con cirugía bariátrica.

Parámetros	M0 (n=20)	M12 (n=20)	p
Edad (años)	38.8 ± 8.6	—	—
Mujeres (%)	65.0	—	—
Peso (Kg)	132.5 ± 24.3	91.8 ± 15.6	4.76x10⁻¹⁰
IMC (Kg/m ²)	45.7 (42.3 – 52.0)	32.9 (28.7 – 36.2)	8.86x10⁻⁵
Glucosa (mg/dL)	96.1 ± 13.7	79.6 ± 5.4	2.74x10⁻⁴
Triacilglicéridos (mg/dL)	159.5 (104.3 - 180.8)	100.0 (67.0 - 144.0)	2.13x10⁻⁴
Colesterol total (mg/dL)	159.5 ± 37.4	143.6 ± 17.1	0.047
C-LDL (mg/dL)	109.3 ± 25.0	84.4 ± 17.8	5.20x10⁻⁵
C-HDL (mg/dL)	36.3 ± 6.7	44.8 ± 7.9	0.001
Vitamina B12 (pg/mL)	358.0 (260.0 – 521.0) (n=15)	313.5 (254.67 - 436.0)	0.501

Los parámetros con distribución normal se presentan con la media ± DE, los datos con distribución no normal se presentan con la mediana (rangos intercuartiles 25–75). Pruebas estadísticas realizadas: prueba t y prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas, de acuerdo con la distribución de la variable. Se consideró una diferencia significativa cuando p<0.05. Las diferencias significativas se encuentran resaltadas en la columna p. IMC—Índice de masa corporal, C-LDL—Lipoproteínas de baja densidad, C-HDL—Lipoproteínas de alta densidad, M0—Tiempo pre-cirugía, M12—Mes 12 después de la cirugía

Vitamina B12 por debajo de los valores de referencia antes de la cirugía y sólo uno presentó niveles bajos (<160 pg/ml), a los 12 meses posterior a la cirugía. Es importante mencionar que la medición realizada fue de vitamina B12 total, y que la única disponible para su utilización es la forma holoTC, por lo que la determinación de vitamina B12 total puede no ser la medición más adecuada para evaluar el estado real de la fracción biodisponible (Green *et al.*, 2017).

Considerando el efecto de malabsorción de nutrientes asociado con el procedimiento quirúrgico por BGYR (Ciobârcă *et al.*, 2020), se esperaba una disminución de los niveles circulantes de vitamina B12. Sin embargo, al año de realizada la cirugía los niveles de esta vitamina se observaron dentro de los valores de referencia, probablemente por la administración de suplementos multivitamínicos, especializados para estos pacientes. En promedio estos suplementos contienen 500 µg de Vitamina B12 por dosis, y la ingesta recomendada para cubrir las necesidades de estos pacientes oscila entre los 500 y 1000 µg por día (Brown, 2015). Los resultados de este estudio muestran que los suplementos están cumpliendo con su función, lo cual a su vez indicaría un buen apego al tratamiento por parte de los pacientes, ya que no se presentó una disminución en los niveles de vitamina B12 total en circulación.

Para evaluar la posible relación de la microbiota intestinal con los niveles en circulación de vitamina B12 total en los 20 sujetos con cirugía bariátrica, se correlacionaron los niveles en circulación de vitamina B12 y la abundancia de los géneros que se encontraron enriquecidos en el grupo OB/B12-A (*Peptococcus*, *Acidaminococcus*, *Lactobacillus*, *Hungatella* y *Oscillibacter*), considerando sólo aquellos con una prevalencia mayor o igual al 75% en al menos un tiempo de evaluación, siendo *Oscillibacter* el único género que cumplió con este criterio.

En la Figura 8 se puede observar que *Oscillibacter* tiene una correlación positiva con los niveles en circulación de vitamina B12 antes de la cirugía y una correlación negativa a los 12 meses después de la cirugía, aunque ninguna de estas asociaciones fue significativa (pre-cirugía: coef=0.381, p=0.472; post-cirugía coef= -0.514, p=0.326). Por otra parte, en la Figura 9 se puede observar que la abundancia de este género disminuyó significativamente a los 12 meses post-cirugía.

En el contexto de cirugía bariátrica, la mayoría de los estudios coinciden en mostrar que esta bacteria disminuye en abundancia después de la cirugía (Guo *et al.*, 2018),

tanto en BGYR (Dang *et al.*, 2021) como en manga gástrica (Liang *et al.*, 2022), observando también una mayor abundancia de este género en sujetos con una menor pérdida de peso tras la cirugía (Fouladi *et al.*, 2019).

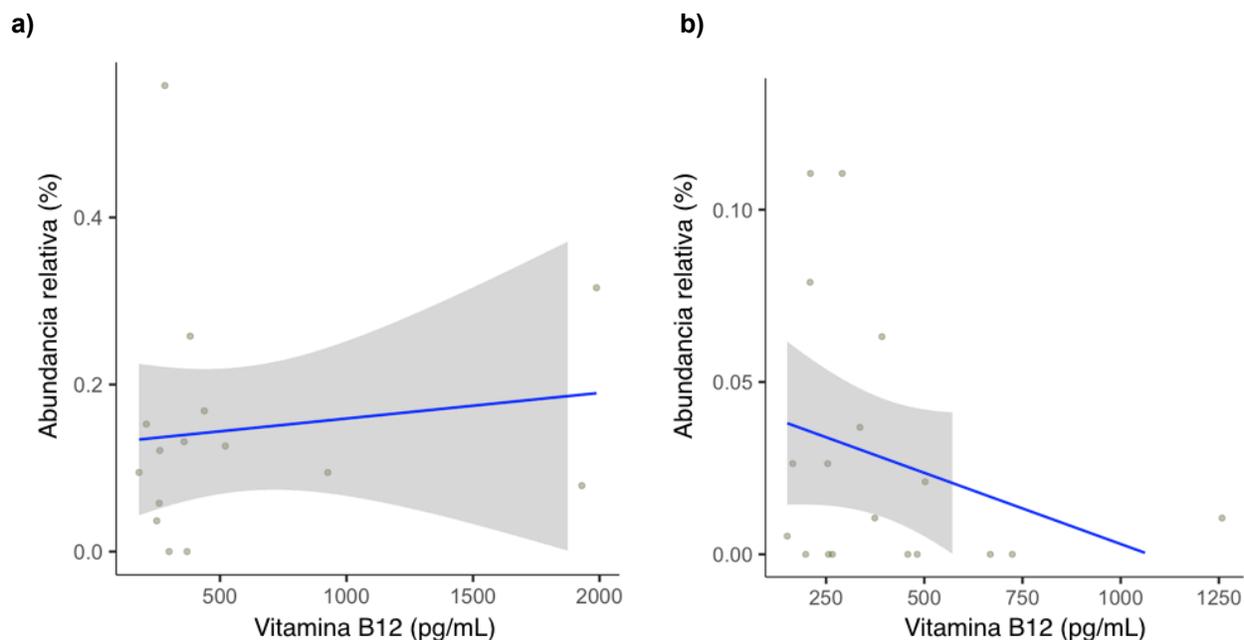


Figura 8. Correlación entre niveles en circulación de Vitamina B12 con la abundancia relativa del género *Oscillibacter*.

a) Gráfica de la correlación con los valores de vitamina B12 al mes cero (Tiempo pre-cirugía), b) Gráfica de la correlación con los valores de vitamina B12 al mes 12 después de la cirugía.

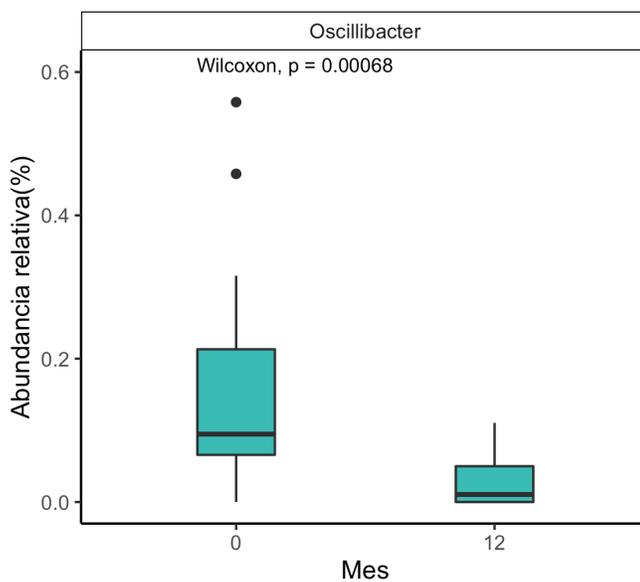


Figura 9. Abundancia del género *Oscillibacter* en los tiempos pre-cirugía y a un año de seguimiento.

Dado que ninguno de los estudios antes mencionados reportó datos de vitamina B12 en circulación, puede considerarse que este es el primer estudio que sugiere la interrelación entre obesidad, ingesta alta de vitamina B12 y mayor abundancia de *Oscillibacter*. Sin embargo, para confirmar estos hallazgos, son necesarios estudios de seguimiento en los que se evalúe el estado nutricional, la ingesta de vitamina B12, los niveles circulantes de la fracción biodisponible así como la composición de la microbiota intestinal.

Conclusiones

La microbiota intestinal de los sujetos con baja ingesta de vitamina B12 no mostró un perfil enriquecido en bacterias potencialmente productoras de esta vitamina. De los géneros enriquecidos en el perfil de microbiota de sujetos con obesidad e ingesta alta de vitamina B12, solo *Oscillibacter* ha sido asociada a la utilización de esta vitamina. Sin embargo, en pacientes con cirugía bariátrica la abundancia de *Oscillibacter* no se relacionó con los niveles séricos de vitamina B12. En conclusión, no fue posible identificar un perfil de microbiota intestinal asociado con la producción o utilización de vitamina B12, que potencialmente pudiera contribuir a la concentración de esta vitamina en circulación.

Perspectivas

Como complemento al presente trabajo, se propone incorporar la determinación de niveles circulantes de vitamina B12, esto permitirá tener un mejor acercamiento al efecto que podría tener la microbiota intestinal sobre la vitamina B12 en circulación. Así mismo, se considera conveniente realizar estudios de intervención con una dieta controlada y diferentes aportes de vitamina B12 para lograr separar el efecto de la ingesta de esta vitamina sobre la microbiota intestinal. Finalmente, se sugiere realizar estudios prospectivos longitudinales donde se evalúe el estado nutricional, la ingesta de vitamina B12, las concentraciones circulantes de vitamina B12 y la microbiota intestinal, ya que podrían contribuir a un mejor entendimiento del posible efecto de la microbiota intestinal sobre el metabolismo de vitamina B12 y su relación con la obesidad.

Anexo

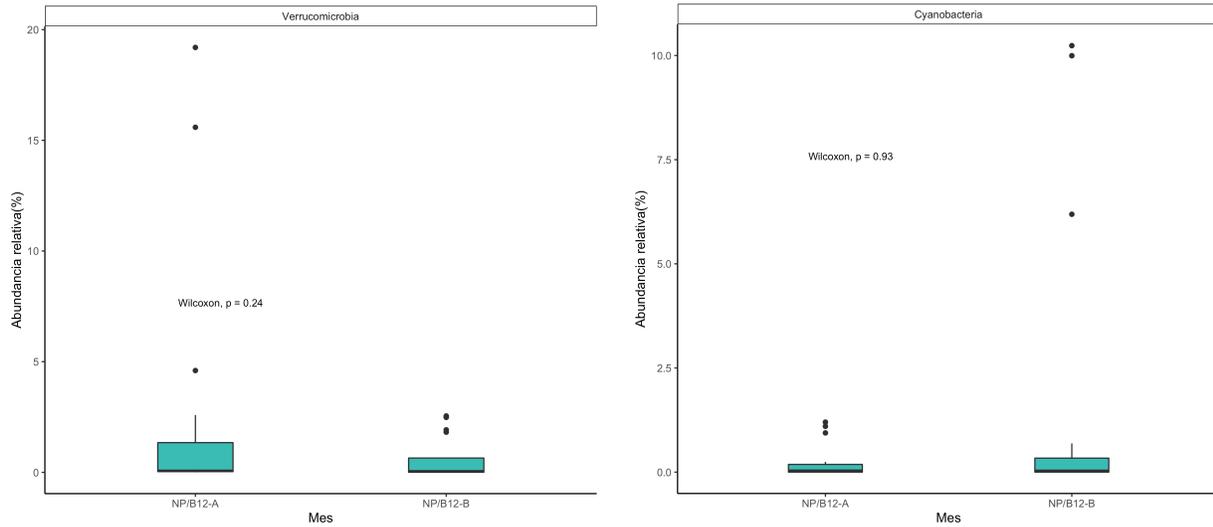


Figura suplementaria 1. Comparación de los filos *Cyanobacteria* y *Verrucomicrobia* entre los grupos NP/B12-B y NP/B12-A.

NP/B12-A=Normopeso con ingesta alta de vitamina B12, NP/B12-B= Normopeso con ingesta baja de vitamina B12

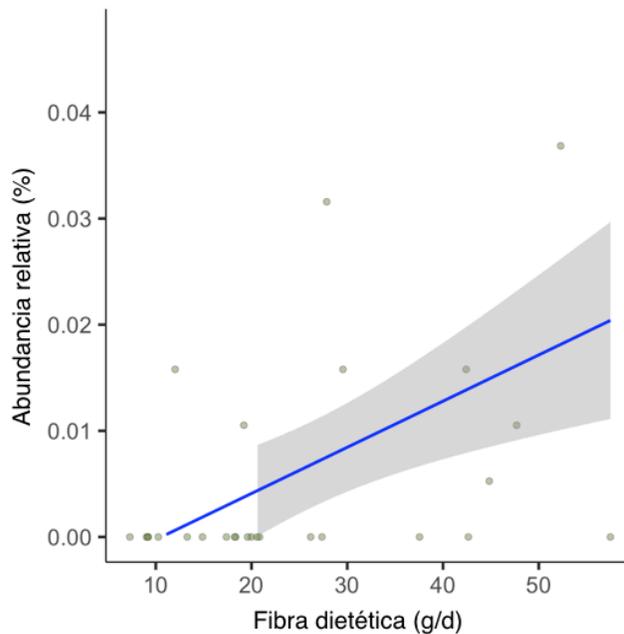


Figura suplementaria 2. Correlación entre la ingesta de fibra total y la abundancia del género *Peptococcus* en los grupos con obesidad (OB/B12-B y OB/B12-A).

OB/B12-A=Obesidad con ingesta alta de vitamina B12, OB/B12-B=Obesidad con ingesta baja de vitamina B12.

Tabla suplementaria 1. Valores estimados de ingesta diaria de macronutrientes y vitaminas B en la población de estudio normopeso y con obesidad

Nutriente	Grupo			
	NP/B12-B (n=25)	NP/B12-A (n=24)	OB/B12-B (n=15)	OB/B12-A (n=13)
Calorías (Kcal/d)	1103.4 (840.3 – 1477.7) ^a	1781.5 (1436.2 – 2169.4) ^b	1159.6 (973.4 – 1490.4) ^a	2003.5 (1518.7 – 2835.3) ^b
Proteína (g/d)	29.0 (22.5 – 44.1) ^a	60.7 (48.9 – 77.5) ^b	30.9 (25.8 – 44.9) ^a	80.5 (59.5 – 97.9) ^c
Grasa animal (g/d)	10.4 (4.4 – 16.8) ^a	25.0 (18.7 – 31.7) ^b	13.5 (9.3 – 19.5) ^a	31.4 (27.7 – 48.3) ^c
Grasa vegetal (g/d)	14.4 (9.4 – 19.3) ^a	19.0 (13.4 – 26.6) ^b	12.4 (8.8 – 16.1) ^a	22.9 (13.8 – 41.4) ^b
Carbohidratos (g/d)	190.8 (148.1 – 265.4) ^a	260.7 (207.8 – 323.8) ^b	205.3 (159.8 – 256.9) ^{a, b}	269.9 (197.1 – 416.3) ^b
Fibra dietética (g/d)	21.2 (17.3 – 32.9) ^{a, b}	24.0 (17.3 – 32.9) ^{a, b}	18.4 (10.3 – 20.8) ^a	29.6 (19.0 – 46.3) ^b
Tiamina (B1) (mg/d)	0.7 (0.6 – 1.3) ^a	1.4 (1.1 – 1.8) ^b	0.9 (0.6 – 1.3) ^a	1.6 (1.2 – 2.1) ^b
Riboflavina (B2) (mg/d)	0.8 (0.5 – 1.1) ^a	1.8 (1.4 – 2.4) ^b	0.8 (0.5 – 1.1) ^a	1.6 (1.4 – 2.8) ^b
Niacina (B3) (mg/d)	8.6 (6.8 – 13.4) ^a	15.4 (11.8 – 19.3) ^b	8.6 (5.5 – 12.8) ^a	15.8 (12.5 – 25.5) ^b
Ácido pantoténico (B5) (mg/d)	2.3 (1.7 – 3.4) ^a	4.8 (3.9 – 6.0) ^b	2.2 (1.8 – 3.1) ^a	4.6 (3.9 – 6.7) ^b
Piridoxina (B6) (mg/d)	1.3 (0.6 – 1.7) ^a	1.8 (1.6 – 2.4) ^b	1.0 (0.6 – 1.4) ^a	1.9 (1.6 – 2.7) ^b
Folato (B9) (µg/d)	198.1 (105.0 – 361.9) ^a	320.7 (260.8 – 420.6) ^b	180.2 (96.8 – 327.9) ^a	381.5 (250.3 – 525.0) ^b

Las características dietéticas se presentan con la mediana (rangos intercuartiles 25–75). Las medianas seguidas de una letra común no son significativamente diferentes por la prueba U de Mann-Whitney al 95% de significancia. Se consideró un resultado significativo cuando $P < 0.05$. Las medianas seguidas de una letra común no son significativamente distintas. NP/B12-A=Normopeso con ingesta alta de vitamina B12, NP/B12-B=Normopeso con ingesta baja de vitamina B12, OB/B12-A=Obesidad con ingesta alta de vitamina B12, OB/B12-B=Obesidad con ingesta baja de vitamina B12.

Bibliografía

1. Al Amin, A., & Gupta, V. (2022). Vitamin B12 (Cobalamin). En *StatPearls*. StatPearls Publishing.
2. Al-Mutawa, A., Anderson, A. K., Alsabab, S., & Al-Mutawa, M. (2018). Nutritional Status of Bariatric Surgery Candidates. *Nutrients*, *10*(1), 67. <https://doi.org/10.3390/nu10010067>
3. Albaugh, V. L., Flynn, C. R., Tamboli, R. A., & Abumrad, N. N. (2016). Recent advances in metabolic and bariatric surgery. *F1000Research*, *5*, F1000 Faculty Rev-978. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7240.1>
4. Allen L. H. (2009). How common is vitamin B-12 deficiency?. *The American journal of clinical nutrition*, *89*(2), 693S–6S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26947A>
5. Anhê, F. F., Varin, T. V., Schertzer, J. D., & Marette, A. (2017). The Gut Microbiota as a Mediator of Metabolic Benefits after Bariatric Surgery. *Canadian journal of diabetes*, *41*(4), 439–447. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2017.02.002>
6. Araki, S., Suzuki, M., Fujimoto, M., & Kimura, M. (1995). Enhancement of resistance to bacterial infection in mice by vitamin B2. *The Journal of veterinary medical science*, *57*(4), 599–602. <https://doi.org/10.1292/jvms.57.599>
7. Arnold, M., Pandeya, N., Byrnes, G., Renehan, P., Stevens, G. A., Ezzati, P. M., Ferlay, J., Miranda, J. J., Romieu, I., Dikshit, R., Forman, D., & Soerjomataram, I. (2015). Global burden of cancer attributable to high body-mass index in 2012: a population-based study. *The Lancet. Oncology*, *16*(1), 36–46. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71123-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71123-4)
8. Aron-Wisnewsky, J., Prifti, E., Belda, E., Ichou, F., Kayser, B. D., Dao, M. C., Verger, E. O., Hedjazi, L., Bouillot, J. L., Chevallier, J. M., Pons, N., Le Chatelier, E., Levenez, F., Ehrlich, S. D., Dore, J., Zucker, J. D., & Clément, K. (2019). Major microbiota dysbiosis in severe obesity: fate after bariatric surgery. *Gut*, *68*(1), 70–82. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316103>
9. Aron-Wisnewsky, J., & Clément, K. (2019). A place for vitamin supplementation and functional food in bariatric surgery?. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, *22*(6), 442–448. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000602>

10. Artemniak-Wojtowicz, D., Kucharska, A. M., & Pyrzak, B. (2020). Obesity and chronic inflammation crosslinking. *Central-European journal of immunology*, 45(4), 461–468. <https://doi.org/10.5114/ceji.2020.103418>
11. Asnicar, F., Berry, S. E., Valdes, A. M., Nguyen, L. H., Piccinno, G., Drew, D. A., Leeming, E., Gibson, R., Le Roy, C., Khatib, H. A., Francis, L., Mazidi, M., Mompeo, O., Valles-Colomer, M., Tett, A., Beghini, F., Dubois, L., Bazzani, D., Thomas, A. M., Mirzayi, C., ... Segata, N. (2021). Microbiome connections with host metabolism and habitual diet from 1,098 deeply phenotyped individuals. *Nature medicine*, 27(2), 321–332. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-01183-8>
12. Astrup, A., Dyerberg, J., Selleck, M., & Stender, S. (2008). Nutrition transition and its relationship to the development of obesity and related chronic diseases. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 9 Suppl 1, 48–52. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2007.00438.x>
13. Baart, A. M., Balvers, M., de Vries, J., Ten Haaf, D., Hopman, M., & Klein Gunnewiek, J. (2021). Relationship between intake and plasma concentrations of vitamin B12 and folate in 873 adults with a physically active lifestyle: a cross-sectional study. *Journal of human nutrition and dietetics : the official journal of the British Dietetic Association*, 34(2), 324–333. <https://doi.org/10.1111/jhn.12814>
14. Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., Semenkovich, C. F., & Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(44), 15718–15723. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407076101>
15. Baltaci, D., Kutlucan, A., Turker, Y., Yilmaz, A., Karacam, S., Deler, H., Ucgun, T., & Kara, I. H. (2013). Association of vitamin B12 with obesity, overweight, insulin resistance and metabolic syndrome, and body fat composition; primary care-based study. *Medicinski glasnik : official publication of the Medical Association of Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina*, 10(2), 203–210.

16. Basu, T. K., & Donaldson, D. (2003). Intestinal absorption in health and disease: micronutrients. *Best practice & research. Clinical gastroenterology*, 17(6), 957–979. [https://doi.org/10.1016/s1521-6918\(03\)00084-2](https://doi.org/10.1016/s1521-6918(03)00084-2)
17. Bettencourt-Silva, R., Neves, J. S., Pedro, J., Guerreiro, V., Ferreira, M. J., Salazar, D., Souteiro, P., Magalhães, D., Oliveira, S. C., Queirós, J., Belo, S., Varela, A., Freitas, P., AMTCO Group, & Carvalho, D. (2019). Comparative Effectiveness of Different Bariatric Procedures in Super Morbid Obesity. *Obesity surgery*, 29(1), 281–291. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-3519-y>
18. Boachie, J., Adaikalakoteswari, A., Samavat, J., & Saravanan, P. (2020). Low Vitamin B12 and Lipid Metabolism: Evidence from Pre-Clinical and Clinical Studies. *Nutrients*, 12(7), 1925. <https://doi.org/10.3390/nu12071925>
19. Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., Cope, E. K., ... Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature biotechnology*, 37(8), 852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
20. Boran, P., Baris, H. E., Kepenekli, E., Erzik, C., Soysal, A., & Dinh, D. M. (2020). The impact of vitamin B12 deficiency on infant gut microbiota. *European journal of pediatrics*, 179(3), 385–393. <https://doi.org/10.1007/s00431-019-03517-2>
21. Brown, J. (2015). Multivitamin-Comparison. Association of family health teams of Ontario. Recuperado el 21 de Agosto de 2022. Disponible en: <https://www.afhto.ca/wp-content/uploads/Multivitamin-Comparison.pdf>
22. Buchwald, H., Estok, R., Fahrbach, K., Banel, D., Jensen, M. D., Pories, W. J., Bantle, J. P., & Sledge, I. (2009). Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *The American journal of medicine*, 122(3), 248–256.e5. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2008.09.041>
23. Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J., & 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>

24. Campos, I., Cuevas, L., González, L., Hernández, L., Shamah, T., González, T., Rivera, J. (2018) Epidemiología de la obesidad y sus principales comorbilidades en México. En J. Rivera (Eds.) *et. al.*, *La Obesidad en México: Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control*. México, Instituto Nacional de Salud Pública.
25. Carrothers, J. M., York, M. A., Brooker, S. L., Lackey, K. A., Williams, J. E., Shafii, B., Price, W. J., Settles, M. L., McGuire, M. A., & McGuire, M. K. (2015). Fecal Microbial Community Structure Is Stable over Time and Related to Variation in Macronutrient and Micronutrient Intakes in Lactating Women. *The Journal of nutrition*, 145(10), 2379–2388. <https://doi.org/10.3945/jn.115.211110>
26. Caspi, R., Billington, R., Fulcher, C. A., Keseler, I. M., Kothari, A., Krummenacker, M., Latendresse, M., Midford, P. E., Ong, Q., Ong, W. K., Paley, S., Subhraveti, P., & Karp, P. D. (2018). The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes. *Nucleic acids research*, 46(D1), D633–D639. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx935>
27. Centers for Disease Control and prevention (CDC). Defining Adult Overweight & Obesity. Recuperado el 21 de Agosto de 2022. Disponible en: <https://www.cdc.gov/obesity/basics/adult-defining.html>
28. Chan, Y. K., Estaki, M., & Gibson, D. L. (2013). Clinical consequences of diet-induced dysbiosis. *Annals of nutrition & metabolism*, 63 Suppl 2, 28–40. <https://doi.org/10.1159/000354902>
29. Charlier, D., & Glansdorff, N. (2004). Biosynthesis of Arginine and Polyamines. *EcoSal Plus*, 1(1), 10.1128/ecosalplus.3.6.1.10. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.3.6.1.10>
30. Ciobârcă, D., Cătoi, A. F., Copăescu, C., Miere, D., & Crișan, G. (2020). Bariatric Surgery in Obesity: Effects on Gut Microbiota and Micronutrient Status. *Nutrients*, 12(1), 235. <https://doi.org/10.3390/nu12010235>
31. Clark, J. M., & Brancati, F. L. (2000). The challenge of obesity-related chronic diseases. *Journal of general internal medicine*, 15(11), 828–829. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1497.2000.00923.x>
32. Clarke, S. F., Murphy, E. F., O'Sullivan, O., Ross, R. P., O'Toole, P. W., Shanahan, F., & Cotter, P. D. (2013). Targeting the microbiota to address diet-induced

- obesity: a time dependent challenge. *PloS one*, 8(6), e65790. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065790>
33. Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258–1270. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.035>
 34. Collado, M. C., Isolauri, E., Laitinen, K., & Salminen, S. (2008). Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *The American journal of clinical nutrition*, 88(4), 894–899. <https://doi.org/10.1093/ajcn/88.4.894>
 35. Combs , G. & McClung, J. (2017). Vitamin B12. En *The Vitamins* (5ta. Edición). Academic Press.
 36. Courcoulas, A. P., Gallagher, J. W., Neiberg, R. H., Eagleton, E. B., DeLany, J. P., Lang, W., Puchai, S., Gourash, W., & Jakicic, J. M. (2020). Bariatric Surgery vs Lifestyle Intervention for Diabetes Treatment: 5-Year Outcomes From a Randomized Trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 105(3), 866–876. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa006>
 37. Cunningham, A. L., Stephens, J. W., & Harris, D. A. (2021). A review on gut microbiota: a central factor in the pathophysiology of obesity. *Lipids in health and disease*, 20(1), 65. <https://doi.org/10.1186/s12944-021-01491-z>
 38. da Silva, P. T., Patias, L. D., Alvarez, G., Kirsten, V. R., Colpo, E., & de Moraes, C. M. (2015). PROFILE OF PATIENTS WHO SEEK THE BARIATRIC SURGERY. *Arquivos brasileiros de cirurgia digestiva : ABCD = Brazilian archives of digestive surgery*, 28(4), 270–273. <https://doi.org/10.1590/S0102-6720201500040013>
 39. Dang, J. T., Mocanu, V., Park, H., Laffin, M., Hotte, N., Karmali, S., Birch, D. W., & Madsen, K. L. (2022). Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy induce substantial and persistent changes in microbial communities and metabolic pathways. *Gut microbes*, 14(1), 2050636. <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2050636>
 40. Das, P., Babaei, P., & Nielsen, J. (2019). Metagenomic analysis of microbe-mediated vitamin metabolism in the human gut microbiome. *BMC genomics*, 20(1), 208. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5591-7>

41. David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., Ling, A. V., Devlin, A. S., Varma, Y., Fischbach, M. A., Biddinger, S. B., Dutton, R. J., & Turnbaugh, P. J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, *505*(7484), 559–563. <https://doi.org/10.1038/nature12820>
42. Davies, N. K., O'Sullivan, J. M., Plank, L. D., & Murphy, R. (2019). Altered gut microbiome after bariatric surgery and its association with metabolic benefits: A systematic review. *Surgery for obesity and related diseases : official journal of the American Society for Bariatric Surgery*, *15*(4), 656–665. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2019.01.033>
43. Debédat, J., Clément, K., & Aron-Wisnewsky, J. (2019). Gut Microbiota Dysbiosis in Human Obesity: Impact of Bariatric Surgery. *Current obesity reports*, *8*(3), 229–242. <https://doi.org/10.1007/s13679-019-00351-3>
44. Degnan, P. H., Barry, N. A., Mok, K. C., Taga, M. E., & Goodman, A. L. (2014). Human gut microbes use multiple transporters to distinguish vitamin B₁₂ analogs and compete in the gut. *Cell host & microbe*, *15*(1), 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.12.007>
45. Denova-Gutiérrez, E., Castañón, S., Talavera, J. O., Gallegos-Carrillo, K., Flores, M., Dosamantes-Carrasco, D., Willett, W. C., & Salmerón, J. (2010). Dietary patterns are associated with metabolic syndrome in an urban Mexican population. *The Journal of nutrition*, *140*(10), 1855–1863. <https://doi.org/10.3945/jn.110.122671>
46. Denova-Gutiérrez, E., Flores, Y. N., Gallegos-Carrillo, K., Ramírez-Palacios, P., Rivera-Paredes, B., Muñoz-Aguirre, P., Velázquez-Cruz, R., Torres-Ibarra, L., Meneses-León, J., Méndez-Hernández, P., Hernández-López, R., Salazar-Martínez, E., Talavera, J. O., Tamayo, J., Castañón, S., Osuna-Ramírez, I., León-Maldonado, L., Flores, M., Macías, N., Antúnez, D., ... Salmerón, J. (2016). Health workers cohort study: methods and study design. *Salud publica de Mexico*, *58*(6), 708–716. <https://doi.org/10.21149/spm.v58i6.8299>
47. Douglas, G. M., Maffei, V. J., Zaneveld, J. R., Yurgel, S. N., Brown, J. R., Taylor, C. M., Huttenhower, C., & Langille, M. (2020). PICRUSt2 for prediction of

- metagenome functions. *Nature biotechnology*, 38(6), 685–688. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0548-6>
48. Duncan, S. H., Belenguer, A., Holtrop, G., Johnstone, A. M., Flint, H. J., & Lobley, G. E. (2007). Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Applied and environmental microbiology*, 73(4), 1073–1078. <https://doi.org/10.1128/AEM.02340-06>
 49. el Kholty, S., Gueant, J. L., Bressler, L., Djalali, M., Boissel, P., Gerard, P., & Nicolas, J. P. (1991). Portal and biliary phases of enterohepatic circulation of corrinoids in humans. *Gastroenterology*, 101(5), 1399–1408. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(91\)90094-2](https://doi.org/10.1016/0016-5085(91)90094-2)
 50. Emerging Risk Factors Collaboration, Wormser, D., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Wood, A. M., Pennells, L., Thompson, A., Sarwar, N., Kizer, J. R., Lawlor, D. A., Nordestgaard, B. G., Ridker, P., Salomaa, V., Stevens, J., Woodward, M., Sattar, N., Collins, R., Thompson, S. G., Whitlock, G., & Danesh, J. (2011). Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. *Lancet (London, England)*, 377(9771), 1085–1095. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60105-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60105-0)
 51. Fang, H., Kang, J., & Zhang, D. (2017). Microbial production of vitamin B12: a review and future perspectives. *Microbial cell factories*, 16(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0631-y>
 52. Fedosov S. N. (2012). Physiological and molecular aspects of cobalamin transport. *Sub-cellular biochemistry*, 56, 347–367. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2199-9_18
 53. Feingold, K. R. (2020). Obesity and Dyslipidemia. En K. R. Feingold (Eds.) *et. al.*, *Endotext*. MDTtext.com, Inc.
 54. Foerster, H. (2013). aerobic respiration I (cytochrome c). Recuperado el 21 de Agosto de 2022 de la base de datos MetaCyc.
 55. Fouladi, F., Brooks, A. E., Fodor, A. A., Carroll, I. M., Bulik-Sullivan, E. C., Tsilimigras, M., Sioda, M., & Steffen, K. J. (2019). The Role of the Gut Microbiota

- in Sustained Weight Loss Following Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery. *Obesity surgery*, 29(4), 1259–1267. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-03653-y>
56. Frame-Peterson, L. A., Megill, R. D., Carobrese, S., & Schweitzer, M. (2017). Nutrient Deficiencies Are Common Prior to Bariatric Surgery. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*, 32(4), 463–469. <https://doi.org/10.1177/0884533617712701>
 57. Fried, M., Yumuk, V., Oppert, J. M., Scopinaro, N., Torres, A., Weiner, R., Yashkov, Y., Frühbeck, G., International Federation for Surgery of Obesity and Metabolic Disorders-European Chapter (IFSO-EC), European Association for the Study of Obesity (EASO), & European Association for the Study of Obesity Obesity Management Task Force (EASO OMTF) (2014). Interdisciplinary European guidelines on metabolic and bariatric surgery. *Obesity surgery*, 24(1), 42–55. <https://doi.org/10.1007/s11695-013-1079-8>
 58. Furet, J. P., Kong, L. C., Tap, J., Poitou, C., Basdevant, A., Bouillot, J. L., Mariat, D., Corthier, G., Doré, J., Henegar, C., Rizkalla, S., & Clément, K. (2010). Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*, 59(12), 3049–3057. <https://doi.org/10.2337/db10-0253>
 59. Gao, R., Zhu, C., Li, H., Yin, M., Pan, C., Huang, L., Kong, C., Wang, X., Zhang, Y., Qu, S., & Qin, H. (2018). Dysbiosis Signatures of Gut Microbiota Along the Sequence from Healthy, Young Patients to Those with Overweight and Obesity. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 26(2), 351–361. <https://doi.org/10.1002/oby.22088>
 60. Garcia-Gutierrez, E., Mayer, M. J., Cotter, P. D., & Narbad, A. (2019). Gut microbiota as a source of novel antimicrobials. *Gut microbes*, 10(1), 1–21. <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1455790>
 61. Geiker, N., Veller, M., Kjoelbaek, L., Jakobsen, J., Ritz, C., Raben, A., Astrup, A., Lorenzen, J. K., Larsen, L. H., & Bügel, S. (2018). Effect of low energy diet for eight weeks to adults with overweight or obesity on folate, retinol, vitamin B12, D and E status and the degree of inflammation: a post hoc analysis of a randomized intervention trial. *Nutrition & metabolism*, 15, 24. <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0263-1>

62. Georgiou, K. (2021). Gut Microbiota in Obesity and Bariatric Surgery: Where Do We Stand?. En M. Gazouli & G. Theodoropolous (Eds.) *Gut Microbiome-Related Diseases and Therapies*. Springer Cham.
63. Ghosh, S., Sinha, J. K., Putcha, U. K., & Raghunath, M. (2016). Severe but Not Moderate Vitamin B12 Deficiency Impairs Lipid Profile, Induces Adiposity, and Leads to Adverse Gestational Outcome in Female C57BL/6 Mice. *Frontiers in nutrition*, 3, 1. <https://doi.org/10.3389/fnut.2016.00001>
64. Goodrich, J. K., Waters, J. L., Poole, A. C., Sutter, J. L., Koren, O., Blekhman, R., Beaumont, M., Van Treuren, W., Knight, R., Bell, J. T., Spector, T. D., Clark, A. G., & Ley, R. E. (2014). Human genetics shape the gut microbiome. *Cell*, 159(4), 789–799. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.053>
65. Gottschall, C., Bueno, M., Peres, A. (2020). Association of intake of vitamins and minerals with the practice of physical activity among individuals with overweight and obesity. *Clinical Nutrition ESPEN*. 40. 643. [10.1016/j.clnesp.2020.09.713](https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2020.09.713).
66. Graessler, J., Qin, Y., Zhong, H., Zhang, J., Licinio, J., Wong, M. L., Xu, A., Chavakis, T., Bornstein, A. B., Ehrhart-Bornstein, M., Lamounier-Zepter, V., Lohmann, T., Wolf, T., & Bornstein, S. R. (2013). Metagenomic sequencing of the human gut microbiome before and after bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes: correlation with inflammatory and metabolic parameters. *The pharmacogenomics journal*, 13(6), 514–522. <https://doi.org/10.1038/tpj.2012.43>
67. Green, R., Allen, L. H., Bjørke-Monsen, A. L., Brito, A., Guéant, J. L., Miller, J. W., Molloy, A. M., Nexø, E., Stabler, S., Toh, B. H., Ueland, P. M., & Yajnik, C. (2017). Vitamin B12 deficiency. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17040. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.40>
68. Green, R., & Miller, J. W. (2022). Vitamin B12 deficiency. En G. Litwack (Ed.) *Vitamins and hormones*, 119, 405–439. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2022.02.003>
69. Grizotte-Lake, M., Zhong, G., Duncan, K., Kirkwood, J., Iyer, N., Smolenski, I., Isoherranen, N., & Vaishnava, S. (2018). Commensals Suppress Intestinal Epithelial Cell Retinoic Acid Synthesis to Regulate Interleukin-22 Activity and

- Prevent Microbial Dysbiosis. *Immunity*, 49(6), 1103–1115.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.11.018>
70. Guetterman, H. M., Huey, S. L., Knight, R., Fox, A. M., Mehta, S., & Finkelstein, J. L. (2021). Vitamin B-12 and the Gastrointestinal Microbiome: A Systematic Review. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 13(2), 530–558. Advance online publication. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab123>
 71. Guo, Y., Huang, Z. P., Liu, C. Q., Qi, L., Sheng, Y., & Zou, D. J. (2018). Modulation of the gut microbiome: a systematic review of the effect of bariatric surgery. *European journal of endocrinology*, 178(1), 43–56. <https://doi.org/10.1530/EJE-17-0403>
 72. Gurwara, S., Ajami, N. J., Jang, A., Hessel, F. C., Chen, L., Plew, S., Wang, Z., Graham, D. Y., Hair, C., White, D. L., Kramer, J., Kourkoumpetis, T., Hoffman, K., Cole, R., Hou, J., Husain, N., Jarbrink-Sehgal, M., Hernaez, R., Kanwal, F., Ketwaroo, G., ... Jiao, L. (2019). Dietary Nutrients Involved in One-Carbon Metabolism and Colonic Mucosa-Associated Gut Microbiome in Individuals with an Endoscopically Normal Colon. *Nutrients*, 11(3), 613. <https://doi.org/10.3390/nu11030613>
 73. Hartman, T. J., Woodson, K., Stolzenberg-Solomon, R., Virtamo, J., Selhub, J., Barrett, M. J., & Albanes, D. (2001). Association of the B-vitamins pyridoxal 5'-phosphate (B(6)), B(12), and folate with lung cancer risk in older men. *American journal of epidemiology*, 153(7), 688–694. <https://doi.org/10.1093/aje/153.7.688>
 74. Hatoum, I. J., Stein, H. K., Merrifield, B. F., & Kaplan, L. M. (2009). Capacity for physical activity predicts weight loss after Roux-en-Y gastric bypass. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 17(1), 92–99. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.507>
 75. Herman, D. R., Rhoades, N., Mercado, J., Argueta, P., Lopez, U., & Flores, G. E. (2020). Dietary Habits of 2- to 9-Year-Old American Children Are Associated with Gut Microbiome Composition. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 120(4), 517–534. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2019.07.024>
 76. Hernández-Avila, J. E., González-Avilés, L., & Rosales-Mendoza, E. (2003). *Manual de usuario. SNUT Sistema de Evaluación de Hábitos Nutricionales y Consumo de Nutrimientos*. México: Instituto Nacional de Salud Pública.

77. Hernández-Avila, M., Romieu, I., Parra, S., Hernández-Avila, J., Madrigal, H., & Willett, W. (1998). Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire to assess dietary intake of women living in Mexico City. *Salud Pública de México*, 40, 133-140.
78. Iyer, N., & Vaishnava, S. (2019). Vitamin A at the interface of host-commensal-pathogen interactions. *PLoS pathogens*, 15(6), e1007750. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007750>
79. Jimenez, A. G., & Sperandio, V. (2019). Quorum Sensing and the Gut Microbiome. In *Quorum Sensing: Molecular Mechanism and Biotechnological Application*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814905-8.00006-X>
80. Ju, L., Wei, X., Yu, D., Fang, H., Cheng, X., Piao, W., Guo, Q., Xu, X., Li, S., Cai, S., & Zhao, L. (2022). Dietary Micronutrient Status and Relation between Micronutrient Intakes and Overweight and Obesity among Non-Pregnant and Non-Lactating Women Aged 18 to 49 in China. *Nutrients*, 14(9), 1895. <https://doi.org/10.3390/nu14091895>
81. Kanhere, M., He, J., Chassaing, B., Ziegler, T. R., Alvarez, J. A., Ivie, E. A., Hao, L., Hanfelt, J., Gewirtz, A. T., & Tangpricha, V. (2018). Bolus Weekly Vitamin D3 Supplementation Impacts Gut and Airway Microbiota in Adults With Cystic Fibrosis: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 103(2), 564–574. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-01983>
82. Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K., & Miyata, T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic acids research*, 30(14), 3059–3066. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>
83. Kau, A. L., Ahern, P. P., Griffin, N. W., Goodman, A. L., & Gordon, J. I. (2011). Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*, 474(7351), 327–336. <https://doi.org/10.1038/nature10213>
84. Khorgami, Z., Shoar, S., Saber, A. A., Howard, C. A., Danaei, G., & Sclabas, G. M. (2019). Outcomes of Bariatric Surgery Versus Medical Management for Type 2 Diabetes Mellitus: a Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Obesity surgery*, 29(3), 964–974. <https://doi.org/10.1007/s11695-018-3552-x>

85. Kimmons, J. E., Blanck, H. M., Tohill, B. C., Zhang, J., & Khan, L. K. (2006). Associations between body mass index and the prevalence of low micronutrient levels among US adults. *MedGenMed : Medscape general medicine*, 8(4), 59.
86. Klop, B., Elte, J. W., & Cabezas, M. C. (2013). Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*, 5(4), 1218–1240. <https://doi.org/10.3390/nu5041218>
87. Kong, L. C., Tap, J., Aron-Wisnewsky, J., Pelloux, V., Basdevant, A., Bouillot, J. L., Zucker, J. D., Doré, J., & Clément, K. (2013). Gut microbiota after gastric bypass in human obesity: increased richness and associations of bacterial genera with adipose tissue genes. *The American journal of clinical nutrition*, 98(1), 16–24. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.058743>
88. Krzizek, E. C., Brix, J. M., Herz, C. T., Kopp, H. P., Schernthaner, G. H., Schernthaner, G., & Ludvik, B. (2018). Prevalence of Micronutrient Deficiency in Patients with Morbid Obesity Before Bariatric Surgery. *Obesity surgery*, 28(3), 643–648. <https://doi.org/10.1007/s11695-017-2902-4>
89. Kumar, K. A., Lalitha, A., Pavithra, D., Padmavathi, I. J., Ganeshan, M., Rao, K. R., Venu, L., Balakrishna, N., Shanker, N. H., Reddy, S. U., Chandak, G. R., Sengupta, S., & Raghunath, M. (2013). Maternal dietary folate and/or vitamin B12 restrictions alter body composition (adiposity) and lipid metabolism in Wistar rat offspring. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(1), 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.01.004>
90. Lang, J. M., Pan, C., Cantor, R. M., Tang, W., Garcia-Garcia, J. C., Kurtz, I., Hazen, S. L., Bergeron, N., Krauss, R. M., & Lusi, A. J. (2018). Impact of Individual Traits, Saturated Fat, and Protein Source on the Gut Microbiome. *mBio*, 9(6), e01604-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.01604-18>
91. Lam, Y. Y., Ha, C. W., Campbell, C. R., Mitchell, A. J., Dinudom, A., Oscarsson, J., Cook, D. I., Hunt, N. H., Caterson, I. D., Holmes, A. J., & Storlien, L. H. (2012). Increased gut permeability and microbiota change associate with mesenteric fat inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *PloS one*, 7(3), e34233. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034233>
92. Lauby-Secretan, B., Scoccianti, C., Loomis, D., Grosse, Y., Bianchini, F., Straif, K., & International Agency for Research on Cancer Handbook Working Group

- (2016). Body Fatness and Cancer--Viewpoint of the IARC Working Group. *The New England journal of medicine*, 375(8), 794–798. <https://doi.org/10.1056/NEJMSr1606602>
93. Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., Falony, G., Almeida, M., Arumugam, M., Batto, J. M., Kennedy, S., Leonard, P., Li, J., Burgdorf, K., Grarup, N., Jørgensen, T., Brandslund, I., Nielsen, H. B., Juncker, A. S., Bertalan, M., Levenez, F., ... Pedersen, O. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*, 500(7464), 541–546. <https://doi.org/10.1038/nature12506>
94. le Roux, C. W., Aylwin, S. J., Batterham, R. L., Borg, C. M., Coyle, F., Prasad, V., Shurey, S., Ghatei, M. A., Patel, A. G., & Bloom, S. R. (2006). Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Annals of surgery*, 243(1), 108–114. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000183349.16877.84>
95. LeBlanc, J. G., Milani, C., de Giori, G. S., Sesma, F., van Sinderen, D., & Ventura, M. (2013). Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Current opinion in biotechnology*, 24(2), 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.08.005>
96. Li, L., Krause, L., & Somers, S. (2017). Associations between micronutrient intakes and gut microbiota in a group of adults with cystic fibrosis. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 36(4), 1097–1104. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.06.029>
97. Liang, D., Zhang, X., Liu, Z., Zheng, R., Zhang, L., Yu, D., & Shen, X. (2022). The Genus Parabacteroides Is a Potential Contributor to the Beneficial Effects of Truncal Vagotomy-Related Bariatric Surgery. *Obesity surgery*, 32(7), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11695-022-06017-9>
98. Liou, A. P., Paziuk, M., Luevano, J. M., Jr, Machineni, S., Turnbaugh, P. J., & Kaplan, L. M. (2013). Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. *Science translational medicine*, 5(178), 178ra41. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005687>
99. Liu, R., Hong, J., Xu, X., Feng, Q., Zhang, D., Gu, Y., Shi, J., Zhao, S., Liu, W., Wang, X., Xia, H., Liu, Z., Cui, B., Liang, P., Xi, L., Jin, J., Ying, X., Wang, X.,

- Zhao, X., Li, W., ... Wang, W. (2017). Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention. *Nature medicine*, 23(7), 859–868. <https://doi.org/10.1038/nm.4358>
100. López, P. (2022). *Caracterización de la microbiota intestinal asociada con dislipidemia y su relación con cambios en parámetros lipídicos después de cirugía bariátrica*. México: UNAM, Facultad de Química. Tesis de Maestría en Ciencias Bioquímicas.
101. López-Montoya, P., Cerqueda-García, D., Rodríguez-Flores, M., López-Contreras, B., Villamil-Ramírez, H., Morán-Ramos, S., Molina-Cruz, S., Rivera-Paredes, B., Antuna-Puente, B., Velázquez-Cruz, R., Villarreal-Molina, T., & Canizales-Quinteros, S. (2022). Association of Gut Microbiota with Atherogenic Dyslipidemia, and Its Impact on Serum Lipid Levels after Bariatric Surgery. *Nutrients*, 14(17), 3545. <https://doi.org/10.3390/nu14173545>
102. Lozupone, C., Lladser, M. E., Knights, D., Stombaugh, J., & Knight, R. (2011). UniFrac: an effective distance metric for microbial community comparison. *The ISME journal*, 5(2), 169–172. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.133>
103. Lv, Z., Wang, Y., Yang, T., Zhan, X., Li, Z., Hu, H., Li, T., & Chen, J. (2016). Vitamin A deficiency impacts the structural segregation of gut microbiota in children with persistent diarrhea. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 59(2), 113–121. <https://doi.org/10.3164/jcbn.15-148>
104. Maddock, J., Ambrosini, G. L., Griffin, J. L., West, J. A., Wong, A., Hardy, R., & Ray, S. (2019). A dietary pattern derived using B-vitamins and its relationship with vascular markers over the life course. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 38(3), 1464–1473. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.06.969>
105. Magnúsdóttir, S., Ravcheev, D., de Crécy-Lagard, V., & Thiele, I. (2015). Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests cooperation among gut microbes. *Frontiers in genetics*, 6, 148. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00148>
106. Maioli, T. U., Borrás-Nogues, E., Torres, L., Barbosa, S. C., Martins, V. D., Langella, P., Azevedo, V. A., & Chatel, J. M. (2021). Possible Benefits of *Faecalibacterium prausnitzii* for Obesity-Associated Gut Disorders. *Frontiers in pharmacology*, 12, 740636. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.740636>

107. Mallick, H., Rahnavard, A., Mclver, L. J., Ma, S., Zhang, Y., Nguyen, L. H., Tickle, T. L., Weingart, G., Ren, B., Schwager, E. H., Chatterjee, S., Thompson, K. N., Wilkinson, J. E., Subramanian, A., Lu, Y., Waldron, L., Paulson, J. N., Franzosa, E. A., Bravo, H. C., & Huttenhower, C. (2021). Multivariable association discovery in population-scale meta-omics studies. *PLoS computational biology*, *17*(11), e1009442. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009442>
108. Martínez Steele, E., Popkin, B. M., Swinburn, B., & Monteiro, C. A. (2017). The share of ultra-processed foods and the overall nutritional quality of diets in the US: evidence from a nationally representative cross-sectional study. *Population health metrics*, *15*(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s12963-017-0119-3>
109. McKay, J., Ho, S., Jane, M., & Pal, S. (2020). Overweight & obese Australian adults and micronutrient deficiency. *BMC nutrition*, *6*, 12. <https://doi.org/10.1186/s40795-020-00336-9>
110. McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*, *8*(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
111. Medina, D. A., Pedreros, J. P., Turiel, D., Quezada, N., Pimentel, F., Escalona, A., & Garrido, D. (2017). Distinct patterns in the gut microbiota after surgical or medical therapy in obese patients. *PeerJ*, *5*, e3443. <https://doi.org/10.7717/peerj.3443>
112. Meyer, H. E., Willett, W. C., Fung, T. T., Holvik, K., & Feskanich, D. (2019). Association of High Intakes of Vitamins B6 and B12 From Food and Supplements With Risk of Hip Fracture Among Postmenopausal Women in the Nurses' Health Study. *JAMA network open*, *2*(5), e193591. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.3591>
113. Million, M., Maraninchi, M., Henry, M., Armougom, F., Richet, H., Carrieri, P., Valero, R., Raccach, D., Vialettes, B., & Raoult, D. (2012). Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. *International journal of obesity (2005)*, *36*(6), 817–825. <https://doi.org/10.1038/ijo.2011.153>
114. Moran-Ramos, S., Lopez-Contreras, B. E., Villarruel-Vazquez, R., Ocampo-Medina, E., Macias-Kauffer, L., Martinez-Medina, J. N., Villamil-Ramirez, H.,

- León-Mimila, P., Del Rio-Navarro, B. E., Ibarra-Gonzalez, I., Vela-Amieva, M., Gomez-Perez, F. J., Velazquez-Cruz, R., Salmeron, J., Reyes-Castillo, Z., Aguilar-Salinas, C., & Canizales-Quinteros, S. (2020). Environmental and intrinsic factors shaping gut microbiota composition and diversity and its relation to metabolic health in children and early adolescents: A population-based study. *Gut microbes*, *11*(4), 900–917. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1712985>
115. Murphy, R., Tsai, P., Jüllig, M., Liu, A., Plank, L., & Booth, M. (2017). Differential Changes in Gut Microbiota After Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy Bariatric Surgery Vary According to Diabetes Remission. *Obesity surgery*, *27*(4), 917–925. <https://doi.org/10.1007/s11695-016-2399-2>
116. Muscogiuri, G., Cantone, E., Cassarano, S., Tuccinardi, D., Barrea, L., Savastano, S., Colao, A., & on behalf of the Obesity Programs of nutrition, Education, Research and Assessment (OPERA) group (2019). Gut microbiota: a new path to treat obesity. *International journal of obesity supplements*, *9*(1), 10–19. <https://doi.org/10.1038/s41367-019-0011-7>
117. Nielsen, M. J., Rasmussen, M. R., Andersen, C. B., Nexø, E., & Moestrup, S. K. (2012). Vitamin B12 transport from food to the body's cells--a sophisticated, multistep pathway. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, *9*(6), 345–354. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.76>
118. O'Leary, F., & Samman, S. (2010). Vitamin B12 in health and disease. *Nutrients*, *2*(3), 299–316. <https://doi.org/10.3390/nu2030299>
119. Obeid, R., Heil, S. G., Verhoeven, M., van den Heuvel, E., de Groot, L., & Eussen, S. (2019). Vitamin B12 Intake From Animal Foods, Biomarkers, and Health Aspects. *Frontiers in nutrition*, *6*, 93. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00093>
120. Oh, R., & Brown, D. L. (2003). Vitamin B12 deficiency. *American family physician*, *67*(5), 979–986.
121. Oliai Araghi, S., Braun, K., van der Velde, N., van Dijk, S. C., van Schoor, N. M., Zillikens, M. C., de Groot, L., Uitterlinden, A. G., Stricker, B. H., Voortman, T., & Kiefte-de Jong, J. C. (2020). B-vitamins and body composition: integrating observational and experimental evidence from the B-PROOF study. *European journal of nutrition*, *59*(3), 1253–1262. <https://doi.org/10.1007/s00394-019-01985-8>

122. Oliphant, K., & Allen-Vercoe, E. (2019). Macronutrient metabolism by the human gut microbiome: major fermentation by-products and their impact on host health. *Microbiome*, 7(1), 91. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0704-8>
123. Organización Mundial de la Salud (2010). A healthy lifestyle – WHO recommendations. Recuperado el 21 de Agosto de 2022. Disponible en: <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/a-healthy-lifestyle---who-recommendations>
124. Osborne, G., Wu, F., Yang, L., Kelly, D., Hu, J., Li, H., Jasmine, F., Kibriya, M. G., Parvez, F., Shaheen, I., Sarwar, G., Ahmed, A., Eunos, M., Islam, T., Pei, Z., Ahsan, H., & Chen, Y. (2020). The association between gut microbiome and anthropometric measurements in Bangladesh. *Gut microbes*, 11(1), 63–76. <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1614394>
125. Palleja, A., Kashani, A., Allin, K. H., Nielsen, T., Zhang, C., Li, Y., Brach, T., Liang, S., Feng, Q., Jørgensen, N. B., Bojsen-Møller, K. N., Dirksen, C., Burgdorf, K. S., Holst, J. J., Madsbad, S., Wang, J., Pedersen, O., Hansen, T., & Arumugam, M. (2016). Roux-en-Y gastric bypass surgery of morbidly obese patients induces swift and persistent changes of the individual gut microbiota. *Genome medicine*, 8(1), 67. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0312-1>
126. Palmas, V., Pisanu, S., Madau, V., Casula, E., Deledda, A., Cusano, R., Uva, P., Vascellari, S., Loviselli, A., Manzin, A., & Velluzzi, F. (2021). Gut microbiota markers associated with obesity and overweight in Italian adults. *Scientific reports*, 11(1), 5532. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84928-w>
127. Patel, J. J., Mundi, M. S., Hurt, R. T., Wolfe, B., & Martindale, R. G. (2017). Micronutrient Deficiencies After Bariatric Surgery: An Emphasis on Vitamins and Trace Minerals. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*, 32(4), 471–480. <https://doi.org/10.1177/0884533617712226>
128. Peltonen, M., & Carlsson, L. M. (2016). Body Fatness and Cancer. *The New England journal of medicine*, 375(20), 2007–2008. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1612038>
129. Perruzza, L., Gargari, G., Proietti, M., Fosso, B., D'Erchia, A. M., Faliti, C. E., Rezzonico-Jost, T., Scribano, D., Mauri, L., Colombo, D., Pellegrini, G.,

- Moregola, A., Mooser, C., Pesole, G., Nicoletti, M., Norata, G. D., Geuking, M. B., McCoy, K. D., Guglielmetti, S., & Grassi, F. (2017). T Follicular Helper Cells Promote a Beneficial Gut Ecosystem for Host Metabolic Homeostasis by Sensing Microbiota-Derived Extracellular ATP. *Cell reports*, *18*(11), 2566–2575. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.02.061>
130. Peterson, C. T., Sharma, V., Elmén, L., & Peterson, S. N. (2015). Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. *Clinical and experimental immunology*, *179*(3), 363–377. <https://doi.org/10.1111/cei.12474>
131. Pham, V. T., Fehlbaum, S., Seifert, N., Richard, N., Bruins, M. J., Sybesma, W., Rehman, A., & Steinert, R. E. (2021). Effects of colon-targeted vitamins on the composition and metabolic activity of the human gut microbiome- a pilot study. *Gut microbes*, *13*(1), 1–20. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1875774>
132. Planells, E., Sánchez, C., Montellano, M. A., Mataix, J., & Llopis, J. (2003). Vitamins B6 and B12 and folate status in an adult Mediterranean population. *European journal of clinical nutrition*, *57*(6), 777–785. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601610>
133. Poitou Bernert, C., Ciangura, C., Coupaye, M., Czernichow, S., Bouillot, J. L., & Basdevant, A. (2007). Nutritional deficiency after gastric bypass: diagnosis, prevention and treatment. *Diabetes & metabolism*, *33*(1), 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2006.11.004>
134. Porter, K., Hoey, L., Hughes, C. F., Ward, M., & McNulty, H. (2016). Causes, Consequences and Public Health Implications of Low B-Vitamin Status in Ageing. *Nutrients*, *8*(11), 725. <https://doi.org/10.3390/nu8110725>
135. Price, M. N., Dehal, P. S., & Arkin, A. P. (2010). FastTree 2--approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PloS one*, *5*(3), e9490. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009490>
136. Rajakovich, L. J., & Balskus, E. P. (2019). Metabolic functions of the human gut microbiota: the role of metalloenzymes. *Natural product reports*, *36*(4), 593–625. <https://doi.org/10.1039/c8np00074c>

137. Rakhra, V., Galappaththy, S. L., Bulchandani, S., & Cabandugama, P. K. (2020). Obesity and the Western Diet: How We Got Here. *Missouri medicine*, 117(6), 536–538.
138. Remely, M., Tesar, I., Hippe, B., Gnauer, S., Rust, P., & Haslberger, A. G. (2015). Gut microbiota composition correlates with changes in body fat content due to weight loss. *Beneficial microbes*, 6(4), 431–439. <https://doi.org/10.3920/BM2014.0104>
139. Rizo, R., González, R., Sánchez, C., & Murguía, M.. (2015). Tendencia de mortalidad por cáncer en México: 1990-2012. *Evid Med Invest Salud* ;8(1):5-15.
140. Rodionov, D. A., Arzamasov, A. A., Khoroshkin, M. S., Iablokov, S. N., Leyn, S. A., Peterson, S. N., Novichkov, P. S., & Osterman, A. L. (2019). Micronutrient Requirements and Sharing Capabilities of the Human Gut Microbiome. *Frontiers in microbiology*, 10, 1316. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01316>
141. Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
142. Rosés, C., Cuevas-Sierra, A., Quintana, S., Riezu-Boj, J. I., Martínez, J. A., Milagro, F. I., & Barceló, A. (2021). Gut Microbiota Bacterial Species Associated with Mediterranean Diet-Related Food Groups in a Northern Spanish Population. *Nutrients*, 13(2), 636. <https://doi.org/10.3390/nu13020636>
143. Said H. M. (2011). Intestinal absorption of water-soluble vitamins in health and disease. *The Biochemical journal*, 437(3), 357–372. <https://doi.org/10.1042/BJ20110326>
144. Sánchez, A., Rojas, P., Basfi-Fer, K., Carrasco, F., Inostroza, J., Codoceo, J., Valencia, A., Papapietro, K., Csendes, A., & Ruz, M. (2016). Micronutrient Deficiencies in Morbidly Obese Women Prior to Bariatric Surgery. *Obesity surgery*, 26(2), 361–368. <https://doi.org/10.1007/s11695-015-1773-9>
145. Sbierski-Kind, J., Grenkowitz, S., Schlickeiser, S., Sandforth, A., Friedrich, M., Kunkel, D., Glaubien, R., Brachs, S., Mai, K., Thürmer, A., Radonić, A., Drechsel, O., Turnbaugh, P. J., Bisanz, J. E., Volk, H. D., Spranger, J., & von Schwartzberg, R. J. (2022). Effects of caloric restriction on the gut

- microbiome are linked with immune senescence. *Microbiome*, 10(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01249-4>
146. Schauer, P. R., Bhatt, D. L., Kirwan, J. P., Wolski, K., Aminian, A., Brethauer, S. A., Navaneethan, S. D., Singh, R. P., Pothier, C. E., Nissen, S. E., Kashyap, S. R., & STAMPEDE Investigators (2017). Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes - 5-Year Outcomes. *The New England journal of medicine*, 376(7), 641–651. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1600869>
147. Schwartz, A., Taras, D., Schäfer, K., Beijer, S., Bos, N. A., Donus, C., & Hardt, P. D. (2010). Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 18(1), 190–195. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.167>
148. Segata, N., Izard, J., Waldron, L., Gevers, D., Miropolsky, L., Garrett, W. S., & Huttenhower, C. (2011). Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome biology*, 12(6), R60. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-6-r60>
149. Setola, E., Monti, L. D., Galluccio, E., Palloshi, A., Fragasso, G., Paroni, R., Magni, F., Sandoli, E. P., Lucotti, P., Costa, S., Fermo, I., Galli-Kienle, M., Origgi, A., Margonato, A., & Piatti, P. (2004). Insulin resistance and endothelial function are improved after folate and vitamin B12 therapy in patients with metabolic syndrome: relationship between homocysteine levels and hyperinsulinemia. *European journal of endocrinology*, 151(4), 483–489. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1510483>
150. Shamah-Levy T, Romero-Martínez M, Barrientos-Gutiérrez T, Cuevas-Nasu L, Bautista-Arredondo S, Colchero MA, Gaona-Pineda EB, Lazcano-Ponce E, Martínez-Barnette J, Alpuche-Arana C, Rivera-Dommarco J.(2022). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2021 sobre Covid-19. Resultados nacionales*. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública.
151. Sherf Dagan, S., Zelber-Sagi, S., Webb, M., Keidar, A., Raziell, A., Sakran, N., Goitein, D., & Shibolet, O. (2016). Nutritional Status Prior to Laparoscopic Sleeve Gastrectomy Surgery. *Obesity surgery*, 26(9), 2119–2126. <https://doi.org/10.1007/s11695-016-2064-9>
152. Singh, P., Subramanian, A., Adderley, N., Gokhale, K., Singhal, R., Bellary, S., Nirantharakumar, K., & Tahrani, A. A. (2020). Impact of bariatric surgery on

- cardiovascular outcomes and mortality: a population-based cohort study. *The British journal of surgery*, 107(4), 432–442. <https://doi.org/10.1002/bjs.11433>
153. Singh, R. K., Chang, H. W., Yan, D., Lee, K. M., Ucmak, D., Wong, K., Abrouk, M., Farahnik, B., Nakamura, M., Zhu, T. H., Bhutani, T., & Liao, W. (2017). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal of translational medicine*, 15(1), 73. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1175-y>
154. Sjöström, L., Lindroos, A. K., Peltonen, M., Torgerson, J., Bouchard, C., Carlsson, B., Dahlgren, S., Larsson, B., Narbro, K., Sjöström, C. D., Sullivan, M., Wedel, H., & Swedish Obese Subjects Study Scientific Group (2004). Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *The New England journal of medicine*, 351(26), 2683–2693. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa035622>
155. Sjöström, L., Narbro, K., Sjöström, C. D., Karason, K., Larsson, B., Wedel, H., Lystig, T., Sullivan, M., Bouchard, C., Carlsson, B., Bengtsson, C., Dahlgren, S., Gummesson, A., Jacobson, P., Karlsson, J., Lindroos, A. K., Lönroth, H., Näslund, I., Olbers, T., Stenlöf, K., ... Swedish Obese Subjects Study (2007). Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. *The New England journal of medicine*, 357(8), 741–752. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa066254>
156. Smith, A. D., Botero, S., Shea-Donohue, T., & Urban, J. F., Jr (2011). The pathogenicity of an enteric *Citrobacter rodentium* Infection is enhanced by deficiencies in the antioxidants selenium and vitamin E. *Infection and immunity*, 79(4), 1471–1478. <https://doi.org/10.1128/IAI.01017-10>
157. Smith, A. D., Warren, M. J., & Refsum, H. (2018). Vitamin B12. *Advances in food and nutrition research*, 83, 215–279. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2017.11.005>
158. Smith, N., Shorten P., Altermann E., Roy N. & McNabb W. (2019) The Classification and Evolution of Bacterial Cross-Feeding. *Front. Ecol. Evol.* 7:153. doi: 10.3389/fevo.2019.00153
159. Sofi, F., Vecchio, S., Giuliani, G., Martinelli, F., Marcucci, R., Gori, A. M., Fedi, S., Casini, A., Surrenti, C., Abbate, R., & Gensini, G. F. (2005). Dietary habits, lifestyle and cardiovascular risk factors in a clinically healthy Italian population:

- the 'Florence' diet is not Mediterranean. *European journal of clinical nutrition*, 59(4), 584–591. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602112>
160. Stabler, S. P., & Allen, R. H. (2004). Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annual review of nutrition*, 24, 299–326. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.24.012003.132440>
161. Stanislowski, M. A., Dabelea, D., Lange, L. A., Wagner, B. D., & Lozupone, C. A. (2019). Gut microbiota phenotypes of obesity. *NPJ biofilms and microbiomes*, 5(1), 18. <https://doi.org/10.1038/s41522-019-0091-8>
162. Stein, J., Stier, C., Raab, H., & Weiner, R. (2014). Review article: The nutritional and pharmacological consequences of obesity surgery. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 40(6), 582–609. <https://doi.org/10.1111/apt.12872>
163. Stover P. J. (2010). Vitamin B12 and older adults. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 13(1), 24–27. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328333d157>
164. Strohmayer, E., Via, M. A., & Yanagisawa, R. (2010). Metabolic management following bariatric surgery. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*, 77(5), 431–445. <https://doi.org/10.1002/msj.20211>
165. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud (2018). *Tratamiento quirúrgico de la obesidad en el adulto. Guia de Rerencia Rapida: Guia de Practica Clinica*. Mexico, Instituto Mexicano del Seguro Social
166. Sugino, K. Y., Paneth, N., & Comstock, S. S. (2019). Michigan cohorts to determine associations of maternal pre-pregnancy body mass index with pregnancy and infant gastrointestinal microbial communities: Late pregnancy and early infancy. *PloS one*, 14(3), e0213733. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213733>
167. Tang, W., Zhan, W., Wei, M., & Chen, Q. (2022). Associations Between Different Dietary Vitamins and the Risk of Obesity in Children and Adolescents: A Machine Learning Approach. *Frontiers in endocrinology*, 12, 816975. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.816975>
168. Thomas-Valdés, S., Tostes, M., Anunciação, P. C., da Silva, B. P., & Sant'Ana, H. (2017). Association between vitamin deficiency and metabolic disorders related to obesity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(15), 3332–3343. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1117413>

169. Torres-Miranda, A., Vega-Sagardía, M. & Garrido, D. (2021). Probiotics, Microbiome and the Concept of Cross-Feeding. En Maria Glibetic (Ed.) *Comprehensive Gut Microbiota*, Elsevier.
170. Tremaroli, V., Karlsson, F., Werling, M., Ståhlman, M., Kovatcheva-Datchary, P., Olbers, T., Fändriks, L., le Roux, C. W., Nielsen, J., & Bäckhed, F. (2015). Roux-en-Y Gastric Bypass and Vertical Banded Gastroplasty Induce Long-Term Changes on the Human Gut Microbiome Contributing to Fat Mass Regulation. *Cell metabolism*, 22(2), 228–238. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.07.009>
171. Tucker, K. L., Rich, S., Rosenberg, I., Jacques, P., Dallal, G., Wilson, P. W., & Selhub, J. (2000). Plasma vitamin B-12 concentrations relate to intake source in the Framingham Offspring study. *The American journal of clinical nutrition*, 71(2), 514–522. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.2.514>
172. Tuomi, K., & Logomarsino, J. V. (2016). Bacterial Lipopolysaccharide, Lipopolysaccharide-Binding Protein, and Other Inflammatory Markers in Obesity and After Bariatric Surgery. *Metabolic syndrome and related disorders*, 14(6), 279–288. <https://doi.org/10.1089/met.2015.0170>
173. Turnbaugh, P. J., Hamady, M., Yatsunenko, T., Cantarel, B. L., Duncan, A., Ley, R. E., Sogin, M. L., Jones, W. J., Roe, B. A., Affourtit, J. P., Egholm, M., Henrissat, B., Heath, A. C., Knight, R., & Gordon, J. I. (2009). A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 457(7228), 480–484. <https://doi.org/10.1038/nature07540>
174. Uebanso, T., Shimohata, T., Mawatari, K., & Takahashi, A. (2020). Functional Roles of B-Vitamins in the Gut and Gut Microbiome. *Molecular nutrition & food research*, 64(18), e2000426. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202000426>
175. Uranga, R. M., & Keller, J. N. (2019). The Complex Interactions Between Obesity, Metabolism and the Brain. *Frontiers in neuroscience*, 13, 513. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00513>
176. Vallianou, N., Stratigou, T., Christodoulatos, G. S., & Dalamaga, M. (2019). Understanding the Role of the Gut Microbiome and Microbial Metabolites in Obesity and Obesity-Associated Metabolic Disorders: Current Evidence and Perspectives. *Current obesity reports*, 8(3), 317–332. <https://doi.org/10.1007/s13679-019-00352-2>

177. Van Guelpen, B., Hultdin, J., Johansson, I., Stegmayr, B., Hallmans, G., Nilsson, T. K., Weinehall, L., Witthöft, C., Palmqvist, R., & Winkvist, A. (2005). Folate, vitamin B12, and risk of ischemic and hemorrhagic stroke: a prospective, nested case-referent study of plasma concentrations and dietary intake. *Stroke*, *36*(7), 1426–1431. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000169934.96354.3a>
178. Vogiatzoglou, A., Smith, A. D., Nurk, E., Berstad, P., Drevon, C. A., Ueland, P. M., Vollset, S. E., Tell, G. S., & Refsum, H. (2009). Dietary sources of vitamin B-12 and their association with plasma vitamin B-12 concentrations in the general population: the Hordaland Homocysteine Study. *The American journal of clinical nutrition*, *89*(4), 1078–1087. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26598>
179. Volland, L., Le Roy, T., Debédat, J., & Clément, K. (2022). Gut microbiota and vitamin status in persons with obesity: A key interplay. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, *23*(2), e13377. <https://doi.org/10.1111/obr.13377>
180. Wang, Q., Jiang, Y., Luo, X., Wang, C., Wang, N., He, H., Zhang, T., & Chen, L. (2020). Chitooligosaccharides Modulate Glucose-Lipid Metabolism by Suppressing SMYD3 Pathways and Regulating Gut Microflora. *Marine drugs*, *18*(1), 69. <https://doi.org/10.3390/md18010069>
181. Wang, Z., Usyk, M., Vázquez-Baeza, Y., Chen, G. C., Isasi, C. R., Williams-Nguyen, J. S., Hua, S., McDonald, D., Thyagarajan, B., Daviglius, M. L., Cai, J., North, K. E., Wang, T., Knight, R., Burk, R. D., Kaplan, R. C., & Qi, Q. (2021). Microbial co-occurrence complicates associations of gut microbiome with US immigration, dietary intake and obesity. *Genome biology*, *22*(1), 336. <https://doi.org/10.1186/s13059-021-02559-w>
182. Watanabe F. (2007). Vitamin B12 sources and bioavailability. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, *232*(10), 1266–1274. <https://doi.org/10.3181/0703-MR-67>
183. Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y. Y., Keilbaugh, S. A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W. A., Knight, R., Sinha, R., Gilroy, E., Gupta, K., Baldassano, R., Nessel, L., Li, H., Bushman, F. D., & Lewis, J. D. (2011). Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science (New York, N.Y.)*, *334*(6052), 105–108. <https://doi.org/10.1126/science.1208344>

184. Xiao, J., Wang, T., Xu, Y., Gu, X., Li, D., Niu, K., Wang, T., Zhao, J., Zhou, R., & Wang, H. L. (2020). Long-term probiotic intervention mitigates memory dysfunction through a novel H3K27me3-based mechanism in lead-exposed rats. *Translational psychiatry*, *10*(1), 25. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0719-8>
185. Xu, Y., , Curtasu, M. V., , Bendiks, Z., , Marco, M. L., , P Nørskov, N., , Knudsen, K., , Hedemann, M. S., , & Lærke, H. N., (2020). Effects of dietary fibre and protein content on intestinal fibre degradation, short-chain fatty acid and microbiota composition in a high-fat fructose-rich diet induced obese Göttingen Minipig model. *Food & function*, *11*(12), 10758–10773. <https://doi.org/10.1039/d0fo02252g>
186. Zeng, M. Y., Inohara, N., & Nuñez, G. (2017). Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal immunology*, *10*(1), 18–26. <https://doi.org/10.1038/mi.2016.75>
187. Zhang, H., DiBaise, J. K., Zuccolo, A., Kudrna, D., Braidotti, M., Yu, Y., Parameswaran, P., Crowell, M. D., Wing, R., Rittmann, B. E., & Krajmalnik-Brown, R. (2009). Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(7), 2365–2370. <https://doi.org/10.1073/pnas.0812600106>
188. Zhang, Y., Rodionov, D. A., Gelfand, M. S., & Gladyshev, V. N. (2009). Comparative genomic analyses of nickel, cobalt and vitamin B12 utilization. *BMC genomics*, *10*, 78. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-78>
189. Zhao L. (2013). The gut microbiota and obesity: from correlation to causality. *Nature reviews. Microbiology*, *11*(9), 639–647. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3089>
190. Zhou, S. S., Li, D., Zhou, Y. M., Sun, W. P., & Liu, Q. G. (2010). B-vitamin consumption and the prevalence of diabetes and obesity among the US adults: population based ecological study. *BMC public health*, *10*, 746. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-10-746>