



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**INFLUENCIA DE LA MICROBIOTA INTESTINAL
EN LA ASOCIACIÓN ENTRE EL CONSUMO DE FIBRA Y LA SALUD METABÓLICA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

Flores López Regina

ASESOR DEL TEMA

Dra. Morán Ramos Sofía



Ciudad Universitaria, CD.MX., 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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: VALDIVIA LOPEZ MARIA DE LOS ANGELES

VOCAL: ESCALANTE LOZADA JOSE ADELFO

SECRETARIO: MORAN RAMOS SOFIA

1er. SUPLENTE: GONZALEZ HERNANDEZ ILIANA ELVIRA

2° SUPLENTE: LEON MIMILA PAOLA VIRIDIANA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Unidad de Genómica de Poblaciones aplicada a la Salud, INMEGEN

Periférico Sur No. 4809, Col. Arenal Tepepan, C.P. 14510, Alcaldía Tlalpan, en
México, CDMX

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Morán Ramos Sofía

SUPERVISOR TÉCNICO:

Dr. Villamil Ramírez Hugo

SUSTENTANTE:

Flores López Regina

Tabla de contenido

Listado de abreviaturas	5
Lista de figuras	6
Lista de tablas	7
Resumen	8
Introducción	10
Antecedentes	12
Fibra dietaria	12
Propiedades fisicoquímicas de la fibra dietaria	14
Solubilidad	15
Viscosidad y capacidad gelificante	16
Fermentabilidad	17
Propiedades de hidratación y capacidad de unión	18
Componentes de la fibra dietaria	19
Polisacáridos	20
Lignina	23
Efectos fisiológicos de la fibra dietaria	24
Microbiota	27
Microbiota intestinal y sus funciones.....	27
Factores que influyen en la composición de la microbiota intestinal.....	29
Enterotipos.....	31
Relación entre la fibra dietaria y la microbiota intestinal	33
Justificación	35

Hipótesis.....	35
Objetivos.....	36
Objetivo general	36
Objetivos específicos.....	36
Procedimiento Experimental.....	36
Muestra de estudio y recopilación de datos	36
Criterios de selección	37
Parámetros antropométricos	37
Toma de muestra de sangre y análisis bioquímicos.....	38
Análisis de composición corporal	39
Clasificación Síndrome Metabólico	39
Evaluación de la ingesta diaria habitual.....	40
Ingesta Adecuada de Fibra Dietaria.....	41
Caracterización de la microbiota intestinal y estratificación del enterotipo..	41
Muestras fecales y extracción de DNA	41
Amplificación de la región V4 del gen 16S del ARN ribosomal.....	42
Procesamiento de las secuencias de amplicones del gen 16S rRNA.....	45
Mediciones Ácidos grasos de cadena corta	47
Análisis Estadístico.....	47
Resultados.....	49
Descripción de la muestra de estudio	49

Descripción de la ingesta habitual de nutrientes	51
Relación entre la ingesta de fibra dietaria y los rasgos metabólicos	52
Concentración de ácidos grasos de cadena corta.....	53
Identificación de los enterotipos	56
Descripción de la muestra de estudio en cada enterotipo	57
Descripción de la ingesta habitual de nutrientes en cada enterotipo	58
Relación entre la ingesta de fibra dietaria y los rasgos metabólicos en cada enterotipo.....	59
Concentración de ácidos grasos de cadena corta en cada enterotipo	61
<i>Discusión.....</i>	65
<i>Conclusiones</i>	74
<i>Perspectivas.....</i>	75
<i>Apéndice.....</i>	76
 Apéndice 1. Metodología extracción DNA Power Fecal DNA kit.....	76
 Apéndice 2. Tablas y figuras complementarias.....	78
<i>Bibliografía</i>	81

Listado de abreviaturas

Abreviatura	Significado
AGCC	Ácidos Grasos de Cadena Corta
ALT	Alanino aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
ATP III	Adult Treatment Panel
CCK	Colecistoquinina
CFCA	Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos
DNA	Ácido desoxiribonucleico
ET-B	Enterotipo Bacteroides
ET-P	Enterotipo Prevotella
ET-R	Enterotipo Ruminococcaceae
FD	Fibra Dietaria
FOS	Fructooligosacaridos
GGT	Gamma glutamil transferasa
GLP-1	Péptido similar a glucagon 1
GOS	Galactooligosacaridos
HDL	Lipoproteinas de alta densidad
HOMA-IR	Evaluación del modelo homeostático de resistencia a la insulina
IA	Ingesta Adecuada
IMC	Índice de Masa Corporal
LDL	Lipoproteinas de baja densidad
LPS	Lipopolisacaridos
MI	Microbiota intestinal
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PYY	Peptido YY
QIIME	Quantitative Insight Into Microbial Ecology
SNUT	Evaluación de Hábitos Nutricionales y Consumo de Nutrientes
UFC	Unidades formadoras de colonias

Lista de figuras

Tabla	Nombre de la Tabla	Página
Tabla 1.	Cortes para la clasificación del estado nutricional con base en los criterios de la OMS	38
Tabla 2.	Criterios para la determinación de síndrome metabólico	40
Tabla 3.	Cortes para la clasificación de la Ingesta Adecuada de fibra dietaria	41
Tabla 4.	Resultados antropométricos, clínicos y bioquímicos de la muestra de estudio	50
Tabla 5.	Ingesta habitual de nutrientes en la muestra de estudio	52
Tabla 6.	Concentración fecal de los diferentes Ácidos grasos de cadena corta (AGCC)	54
Tabla 7.	Resultados antropométricos, clínicos y bioquímicos por enterotipo	58
Tabla 8.	Ingesta habitual de nutrientes por enterotipo	59
Tabla 9.	Concentración fecal de los diferentes Ácidos grasos de cadena corta (AGCC) por enterotipo	62

Lista de tablas

Figura	Nombre de la Figura	Página
Figura 1.	Estructuras presentes en la fibra dietaria	19
Figura 2.	Efectos fisiológicos de la fibra dietaria y mecanismos relacionados	25
Figura 3.	Aplicación de los criterios de selección sobre la muestra de estudio	37
Figura 4.	Metodología para la preparación de librerías	45
Figura 5.	Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre el consumo de FD y los parámetros metabólicos en la muestra de estudio	53
Figura 6.	Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre el consumo de fibra y la concentración fecal de AGCC en materia fecal	55
Figura 7.	Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre la concentración fecal de AGCC y los parámetros metabólicos	55
Figura 8.	Análisis de coordenadas principales para la identificación de enterotipos en la muestra de estudio	56
Figura 9.	Estimaciones de la diversidad alfa en los enterotipos	57
Figura 10.	Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre el consumo de FD y los parámetros metabólicos por enterotipo	61
Figura 11.	Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre el consumo de FD y las concentraciones fecales de AGCC por enterotipo	63
Figura 12.	Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre las concentraciones de AGCC en materia fecal y los parámetros metabólicos por enterotipo	64

Resumen

Antecedentes: La fibra dietaria (FD) es uno de los grupos de moléculas más heterogéneos y diversos presentes en la naturaleza. Actualmente, la FD es considerada como uno de los componentes dietarios más importantes gracias a los efectos benéficos generados en el consumidor y en su microbiota intestinal (MI). A pesar de que generalmente el consumo de FD está asociado con un menor riesgo de enfermedades crónicas y alteraciones metabólicas, diferentes estudios de intervención muestran que la respuesta metabólica generada por el consumo de fibra varía entre individuos, cuestionando las recomendaciones dietéticas normalizadas. Entre otros factores, se ha sugerido que la MI podría influir en la respuesta metabólica, ya que la presencia de diferentes perfiles microbianos intestinales pueden actuar de manera diversa ante la ingesta de los diferentes componentes de la dieta. No obstante, se sabe poco sobre la influencia de la asignación del perfil microbiano del individuo a un determinado grupo, denominado enterotipo, en la relación entre el consumo habitual de componentes de FD y los rasgos metabólicos.

Objetivo: Evaluar si el enterotipo de la microbiota intestinal influye en la relación entre el consumo de los diferentes tipos de fibra y el fenotipo metabólico, en una muestra de población mexicana adulta.

Procedimiento Experimental: Estudio transversal en el que se incluyeron 75 adultos mexicanos con edades entre 18 y 60 años; de los cuales se obtuvieron datos bioquímicos, clínicos y antropométricos, así como la concentración fecal de ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Además la dieta habitual de los individuos participantes se determinó mediante el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (CFCA) previamente validado y la microbiota intestinal se evaluó mediante la secuenciación de la región V4 del gen 16S rRNA a través de la plataforma Illumina

MiSeq. Los enterotipos se estimaron con la distancia Jensen-Shannon y el número óptimo de conglomerados se determinó con el índice Calinski-Harabasz (CH). Finalmente, el análisis de los datos obtenidos, se realizó en los programas informáticos R Studio v1.2.5033 y SPSS v21.

Resultados: En el presente estudio se presenta que, en toda la muestra estudiada una mayor ingesta de FD está relacionada con un menor índice de cintura cadera, sin embargo, también con un mayor porcentaje de grasa corporal. Lo anterior aparentemente impulsado por una mayor producción de AGCC. Llama la atención que aunque solo el 33% de nuestra población cumple con la ingesta adecuada de FD, en los individuos clasificados con el enterotipo Prevotella, un mayor consumo de estructuras de fibra insoluble se asoció con menor resistencia a la insulina y en general con un mejor perfil metabólico; lo cual parece no estar asociado a la producción de AGCC. Cabe resaltar, que en los miembros de los otros enterotipos, estas asociaciones se observaron en su mayoría en la dirección opuesta aunque no fueron significativas.

Conclusiones: Los resultados de nuestro estudio aportan pruebas de que la estratificación de los individuos en función de sus enterotipos intestinales podría ser una estrategia que permitiría comprender mejor la relación entre la dieta y la salud metabólica en adultos de población mexicana.

Introducción

En México, la obesidad y sus comorbilidades son preocupaciones de salud pública de máxima prioridad. La prevalencia de enfermedades directamente relacionadas con la obesidad ha aumentado considerablemente en las últimas décadas, siendo la dieta un factor clave en el desarrollo o prevención de la misma. Actualmente en la población mexicana, se ha descrito una ingesta excesiva de azúcares añadidos y grasas saturadas por más de la mitad de los mexicanos, además de una ingesta inadecuada de fibra dietaria (FD) en relación con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization 2000; López-Olmedo *et al.*, 2016; Batis *et al.*, 2020). Lo anterior resulta alarmante en vista del riesgo asociado con el desarrollo de enfermedades crónicas y alteraciones metabólicas, mismas que podrían ser prevenidas o tratadas con una adecuada ingesta de FD. Concretamente, se ha observado que la ingesta adecuada de FD, 21-38 g por día, puede influir a favor de la salud del consumidor, por medio de diferentes mecanismos (Hernandez, 2010; Fuller *et al.*, 2016). No obstante, a pesar de que el consumo FD tiene beneficios similares en la población, la respuesta metabólica puede variar ampliamente entre individuos. Es posible, que lo anterior este impulsado entre otros factores por la microbiota intestinal (MI), es decir, la presencia de diferentes perfiles microbianos intestinales puede estar influyendo en la forma en que se metabolizan los componentes de los alimentos; por lo que el fenotipo de los individuos podría estar relacionado con su perfil microbiano intestinal.

Se ha propuesto, que una posible forma de clasificar a la MI es por medio de la asignación del perfil bacteriano del individuo a un determinado grupo, denominado enterotipo. Diferentes estudios han reportado a Bacteroides y Prevotella como los enterotipos más contundentes, seguido por una representación de Firmicutes, donde

predomina el género *Ruminococcus* (Arumugam *et al.*, 2011). Hasta el momento, algunos estudios han reportado que la estratificación por enterotipos permite mayor comprensión sobre la relación entre la dieta y la respuesta metabólica de los individuos (Vieira *et al.*, 2016; Costea *et al.*, 2018; Christensen *et al.*, 2019). Particularmente, estudios de nuestro grupo de investigación en niños entre 5 y 12 años de la Ciudad de México mostraron que en aquellos niños clasificados con el enterotipo Prevotella el consumo de FD insoluble presentaba una correlación negativa con los marcadores de resistencia a la insulina, específicamente con el HOMA-IR y la insulina en suero (Martínez, 2020). A pesar de lo anterior, los reportes sobre la influencia de los enterotipos en la relación entre la ingesta de componentes de FD y los rasgos metabólicos en adultos es escasa. Por ello, a través de este estudio se habilitará un mayor entendimiento respecto a la influencia de la microbiota intestinal, particularmente de los enterotipos, en la relación entre el consumo de fibra y la salud metabólica de adultos mexicanos; lo cual, permitirá la categorización de la población para brindar una respuesta más eficiente basada en una nutrición personalizada.

Antecedentes

Fibra dietaria

La fibra dietaria (FD) es considerada uno de los grupos de moléculas más diversos y heterogéneos presentes en la naturaleza (Hamaker y Tuncil, 2104). Hasta la fecha, se han publicado múltiples definiciones que buscan englobar la variedad de estructuras, con diferentes propiedades y efectos fisiológicos, que conforman a la FD. No obstante, desde que Hipsley introdujo el término fibra dietaria en 1953, definirla ha sido desafiante y controversial (Jones, 2014; Fuller *et al.*, 2016). De esta manera, el *CODEX Alimentarius Commission*, junto con organismos oficiales como *American Association of Cereal Chemists-International*, *Food and Nutrition Board*, *European Commission*, y *Food Standards Australia and New Zealand* han intentado uniformar la definición basándose en la composición química de la FD, así como en los beneficios fisiológico para la salud (Fuller *et al.*, 2016; Vilcanqui, 2017). A pesar de que no existe una definición aceptada universalmente, de acuerdo con la literatura, se ha visto que las definiciones coinciden en que la fibra es un conjunto de polímeros y olímeros de carbohidratos los cuales no son digeridos en el intestino delgado, por lo que son total o parcialmente fermentados por la microbiota intestinal (MI) presente en el intestino grueso. Por otro lado, la variedad de definiciones propuestas, difieren en el grado de polimerización, relación con el alimento y efecto fisiológico (Jones, 2014; Fuller *et al.*, 2016).

En este sentido, pese a que existen diferencias en la definición de FD, varios países optaron por alinear su definición de FD con aquella introducida por el *CODEX Alimentarius Commission* en el 2009 (Hamaker y Tuncil, 2014; Jones, 2014). Es por lo anterior, que de acuerdo con Codex Alimentarius (ALINORM 06/29/26, Apéndice III):

Se considera fibra dietaria a aquellos polímeros de carbohidratos con un grado de polimerización no inferior a 3, que no son ni digeridos ni absorbidos en el intestino delgado. El grado de polimerización no menor de 3 excluye a los mono- y disacáridos.

La fibra dietaria consiste en uno o más de los siguientes compuestos:

- Polímeros de carbohidratos comestibles que se encuentran naturalmente en los alimentos;
- Polímeros de carbohidratos que han sido obtenidos de la materia prima alimentaria por métodos físicos, enzimáticos o químicos;
- Polímeros de carbohidratos sintéticos.

Adicionalmente, la definición de FD incluye que esta posea propiedades a favor de la salud.

Con base en lo anterior, hay que señalar que la definición del CODEX *Alimentarius Commission* no incluye a la lignina. No obstante, a pesar de que pueda resultar controversial, otros organismos como el *Food Standards Australia and New Zealand* consideran a la lignina dentro de su definición, gracias a que esta presenta asociaciones con los componentes de la FD, resistencia a la digestión y promueve efectos fisiológicos benéficos; por lo que es considerada para fines de este trabajo (Jones, 2014; Galanakis, 2019).

De manera general, el consumo adecuado de FD puede prevenir y ayudar en algunas de las alteraciones metabólicas y enfermedades crónicas, siendo las propiedades fisicoquímicas de la FD un factor determinante del efecto (Weickert y Pfeiffer, 2008). Aunado a lo anterior, algunos tipos de FD se han caracterizado como prebióticas, es decir, existe evidencia de que resisten la acidez gástrica y la absorción en el tracto gastrointestinal superior, son fermentadas por la MI y estimulan selectivamente el crecimiento y/o la actividad de bacterias intestinales asociadas con beneficios a la

salud. Sin embargo, no todas las FD se ajustan a la definición de prebiótico, pero bien pueden aportar beneficios a través de diferentes mecanismos como la producción de ácidos grasos de cadena corta (Slavin, 2013).

Finalmente, la obtención de FD es a través de diferentes alimentos presentes en la dieta, tales como cereales (trigo, arroz, cebada, avena, etc.), leguminosas (frijoles, habas, lentejas, garbanzos, etc.), frutas (naranja, kiwi, manzana, etc.) y verduras (tomates, calabazas, zanahoria, etc.). Estas diferentes fuentes de origen, así como las distintas técnicas de procesamiento, pueden tener un efecto y ser responsables de las propiedades y la composición final de la FD que ingerimos (Dreher, 2001; Galanakis, 2019). Por ello, es importante mencionar que la FD consumida debe provenir de una amplia variedad de alimentos, para así aprovechar el amplio espectro de los componentes y los múltiples beneficios que estos pueden brindar, mismos que serán descritos más adelante.

Propiedades fisicoquímicas de la fibra dietaria

Con base en la literatura, se ha observado que las propiedades fisicoquímicas de la FD son relevantes para la comprensión de los efectos fisiológicos de la FD sobre los individuos, y la funcionalidad de la misma durante procesamiento de alimentos (Guillon y Champ, 200; Mudgil y Barak, 2013). De esta forma, a continuación, se abordan las principales propiedades fisicoquímicas con el fin de comprender sus factores determinantes.

Solubilidad

El comportamiento de los diferentes tipos de fibra en presencia de agua depende de varios factores, como lo es la presencia de grupos hidroxilo, grupos carboxílicos, o la estructura de los polímeros presentes en la fibra. Lo anterior, influye sobre las uniones que la fibra puede tener con el agua, así como la acumulación de la misma en la matriz de la fibra (Hernández, 2010). De esta forma, considerando la solubilidad en agua, se clasifica en fibras solubles y fibras insolubles. Dicha propiedad, condiciona de manera importante los efectos tecnológicos, así como los efectos fisiológicos de la fibra (Figuroa, 2019).

Por un lado, las fibras solubles consisten en polisacáridos no celulósicos como la pectina, la inulina, las gomas, los B-glucanos y los mucílagos. Estas fibras, al entrar en contacto con el agua forman un retículo, donde el agua se queda retenida. De esta manera, gracias a que las fibras solubles tienen una alta capacidad de retener agua, es que se genera la presencia de una solución altamente viscosa, la cual se ha visto responsable de varios efectos fisiológicos. Se ha observado, que las fibras solubles aumentan el tiempo de tránsito a través del tracto digestivo, lo que deriva en un vaciado gástrico lento, generando disminución de la glucemia postprandial, así como reducción en los niveles de colesterol (Escudero y González, 2006; Hernández, 2010; Mudgil, 2017).

Por el contrario, las fibras insolubles consisten principalmente en componentes de la pared celular de las plantas, tal como la celulosa, lignina y algunas hemicelulosas. Las fibras insolubles, se caracterizan por su porosidad, baja densidad y su escasa capacidad para formar soluciones viscosas. De la misma manera, se ha observado que las fibras insolubles producen un aumento de la masa fecal y excreción de ácidos biliares, así como una reducción del tiempo de tránsito intestinal. Cabe resaltar, que

ambas fibras se encuentran presentes en diversos alimentos en concentraciones diferentes; por lo tanto, para poder beneficiarnos de estas se recomienda incluir tanto fibra soluble como insoluble en la dieta (Dreher, 2001; Mudgil, 2017).

Viscosidad y capacidad gelificante

La viscosidad es una propiedad fisicoquímica de la FD, la cual se basa en la capacidad de los polisacáridos de espesar o formar geles al entrar en contacto con diferentes fluidos. En otras palabras, la viscosidad o capacidad gelificante radica en la habilidad de la fibra, y sus componentes, de absorber agua y formar una masa gelatinosa (Mudgil, 2017). Se puede señalar, que las fibras solubles en agua son el principal componente para el aumento de viscosidad en una solución y formación de geles. No obstante, factores como pH, humedad, peso molecular, temperatura y composición química se han asociado con alteraciones sobre la viscosidad de la FD (Dikeman y Fahey, 2006).

De esta forma, la formación de la viscosidad y del gel tiene un papel importante en los efectos fisicoquímicos y bioquímicos (Vilcanqui, 2017). Por un lado, se ha observado que el consumo de fibra soluble es capaz de aumentar el volumen del contenido luminal y su viscosidad, lo que provoca que el gel formado responda más como un sólido que como un líquido en el tracto gastrointestinal. Este efecto, constituye el principal factor responsable del retraso en el vaciado gástrico, lo que en última instancia produce mayor saciedad (Mudgil y Barak, 2013). Por otra parte, se ha propuesto que la formación de soluciones viscosas reduce el contacto físico entre las enzimas digestivas y los nutrientes, como glucosa y colesterol, lo que reduce su digestión y absorción (Dikeman y Fahey, 2006; Hernandez, 2010; Vilcanqui, 2017).

Fermentabilidad

Probablemente, una de las propiedades más importantes de la FD es la fermentabilidad, ya que se ha observado que el proceso de fermentación, en el colon y ciego, es responsable de varios efectos locales y sistémicos (Koh *et al.*, 2016). En primer lugar, se ha descrito que la FD llega al intestino grueso de forma inalterada, donde es fermentada en mayor o menor medida dependiendo de su estructura y composición química, por la microbiota intestinal. Concretamente, las bacterias producen numerosas enzimas las cuales son capaces de romper los enlaces glucosídicos y químicos de la FD (Rose *et al.*, 2007; Hernandez, 2010). Cabe resaltar, que todos los tipos de fibra, a excepción de la lignina, pueden ser fermentados por las bacterias intestinales, sin embargo, las fibras solubles son más propensas a ser fermentadas que las insolubles. (Escudero y González, 2006; Mudgil, 2017)

Dependiendo de su fermentabilidad las fibras pueden clasificarse en fibras fermentables (>70%), fibras parcialmente fermentables (10-70%) y fibras no fermentables (<10%). Sin importar el grado de fermentación que presente la fibra, los principales productos de la fermentación serán: ácidos grasos de cadena corta (AGCC), siendo acetato butirato y propionato los más representativos y gases como hidrógeno, dióxido de carbono y metano, entre otros metabolitos (Hernandez, 2010; Wang *et al.*, 2019). Dentro de estos metabolitos, se ha observado que los AGCC pueden influir en el metabolismo del hospedero, mostrando efectos benéficos sobre la resistencia a la insulina, metabolismo de lípidos y saciedad entre otros. Por consiguiente, la fermentación de la FD es imprescindible en el buen funcionamiento del aparato digestivo y la ausencia podría generar consecuencias importantes (Hernandez, 2010; Vilcanqui, 2017; Canfora *et al.*, 2019).

Propiedades de hidratación y capacidad de unión

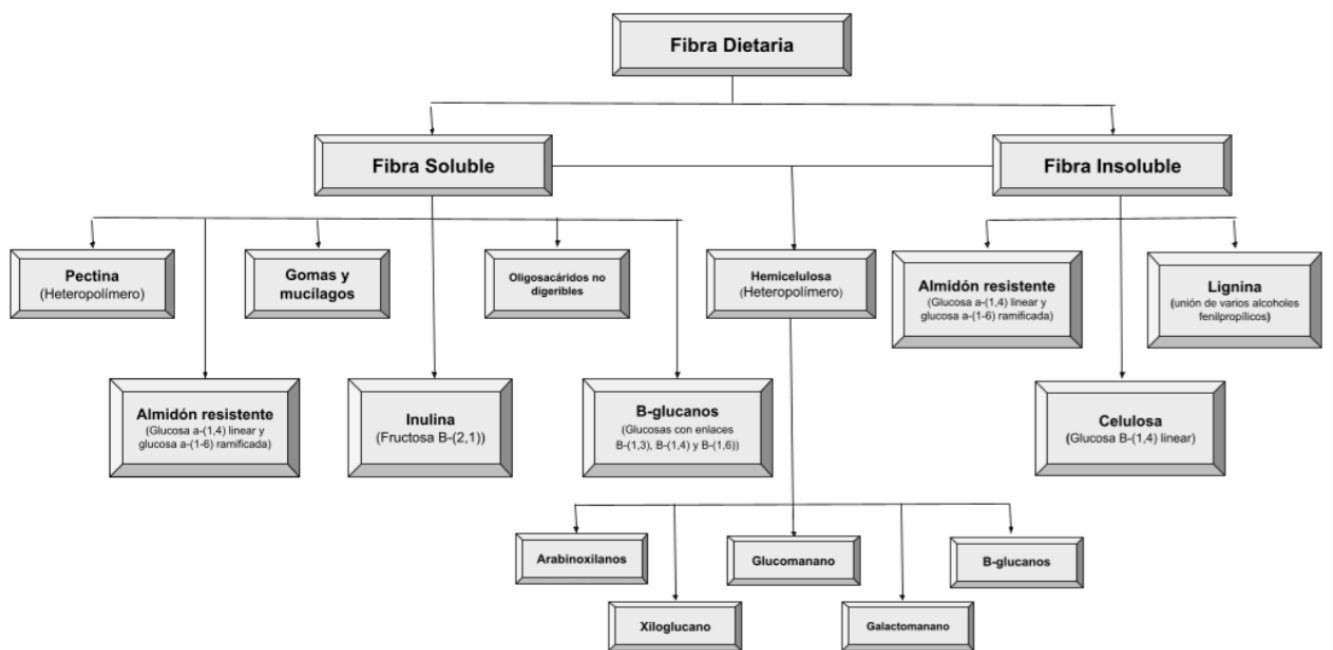
Las propiedades de hidratación de la FD se centran principalmente en la capacidad de absorción de agua, capacidad de retención de agua, y en la capacidad de hinchamiento, mismas que determinan en gran medida el efecto de la FD en el tracto digestivo así como su impacto fisiológico (Dhingra *et al.*, 2012; Vilcanqui, 2017). Generalmente, el agua es retenida en los sitios hidrofílicos presentes en la FD o dentro de los espacios de la matriz, resultando en un agrupamiento de la fibra en el colon. Dicho efecto, se puede ver condicionado a diferentes factores ambientales como la temperatura, el pH, tamaño de partícula y la fuerza iónica. En efecto, una alteración en las características de hidratación de la FD puede verse reflejada en las aplicaciones funcionales y nutricionales de la misma (Dhingra *et al.*, 2012; Chamorro y Mamani, 2010; Mudgil y Barak, 2013).

Junto con las propiedades de hidratación y la capacidad de la FD de ligar agua, se ha reportado que la FD tiene la capacidad de unirse con moléculas polares e iónicas, tales como ácidos biliares y minerales (Guillon y Champ, 2000). La presencia de grupos carboxílicos, ácidos urónicos y compuestos fenólicos son, por lo general, los responsables de estas uniones (Galanakis, 2019). De esta manera, se ha sugerido que la adsorción de los ácidos biliares es un posible mecanismo por el cual algunos componentes de la FD son capaces de aumentar la excreción de estos en las heces. Esta unión con los ácidos biliares se produce principalmente en la región terminal del íleon, donde generalmente ocurre la reabsorción de los ácidos biliares, lo que provoca una mayor utilización del colesterol para la formación de ácidos biliares que finalmente mejorará los niveles de colesterol sérico del cuerpo humano (Mudgil, 2017; Galanakis, 2019).

Componentes de la fibra dietaria

La FD engloba a un grupo muy heterogéneo de estructuras químicas y de naturaleza variable. En su mayoría, son carbohidratos no digeribles con uniones glucosídicas β . Estos componentes, son los responsables de las propiedades que presenta la FD y por ende de las funciones fisiológicas de la misma (Rivera, 2008). Las principales estructuras que se pueden incluir en el concepto de FD se presentan de manera general en la **Figura 1** y las más relevantes se revisan a continuación.

Figura 1. Estructuras presentes en la fibra dietaria



Adaptado de Hamaker y Tuncil, 2014; Mudgil, D. (2017); Galanakis, C. M. (Ed.).

(2019)

Polisacáridos

Celulosa

La celulosa es el polisacárido más abundante de la naturaleza, se encuentra presente en madera y materiales vegetales, sin embargo, también puede ser sintetizada por algas y bacterias (Siró y Plackett, 2010). Este polisacárido lineal, formado por monómeros de glucosa y unido por enlaces glucosídicos β -(1-4), es el compuesto más abundante de las paredes celulares de las plantas; por lo tanto, está presente en nuestra dieta por medio de la ingesta de frutas, verduras y cereales (Leschine, 1995). Las cadenas de celulosa están compuestas por aproximadamente 10,000-15,000 unidades de glucosa, las cuales pueden formar puentes de hidrógeno entre ellas, organizando a las cadenas en miofibrillas y fibras. Particularmente, se han reportado que la estructura de la celulosa generada por bacterias puede formar fibras más finas, en comparación con la celulosa proveniente de materiales vegetales (Siró y Plackett, 2010); mientras que la celulosa extraída de algas puede variar en ancho y longitud dependiendo del alga de origen (Baghel et al., 2021). En este sentido, dicho arreglo origina una estructura rígida y cristalina, la cual es responsable de las propiedades de la celulosa como la insolubilidad y la resistencia a la digestión. A pesar de que la celulosa no puede ser digerida en el intestino delgado, esta puede ser parcialmente utilizada por la microbiota del colon, gracias a las celulasas capaces de romper los enlaces glucosídicos β -(1-4), y así ser parcialmente fermentada por la MI, produciendo a su vez AGCC (Mudgil y Barak, 2013; Galanakis, 2019). Adicionalmente, se ha sugerido que la celulosa tiene un papel clave en la salud intestinal, ya que desempeña un papel protector en el desarrollo del cáncer de colon, además de generar un aumento de la masa fecal y reducción del tiempo de tránsito intestinal gracias a sus propiedades de hidratación. Así mismo, se ha reportado que la celulosa influye en los

niveles de glucosa e insulina en la sangre, sin embargo, los resultados obtenidos no son consistentes por lo que se cree pueden depender del sujeto y su microbiota intestinal así como de otros factores inexplorados. (Mudgil, 2017; Ciudad *et al.*, 2019).

Hemicelulosa

La hemicelulosa consiste en un grupo heterogéneo de moléculas químicas que, al igual que la celulosa, forma parte de la pared celular de las plantas. Se sabe, que la hemicelulosa está compuesta por moléculas lineales y ramificadas que forman polímeros de aproximadamente 50 - 2000 unidades, mismas que le otorga una estructura compleja. Además, dada la heterogeneidad de las estructuras químicas presentes en la hemicelulosa, su solubilidad puede variar por lo que algunas estructuras de la hemicelulosa se consideran solubles y otras insolubles en agua (Hamaker y Tuncil, 2014; Galanakis, 2019). Las unidades monoméricas de la hemicelulosa pueden incluir pentosas (xilosa y arabinosa), así como monómeros de hexosas (glucosa, galactosa, manosa, ramnosa, ácidos glucurónicos y galacturónicos), unidos mediante glucosídicos β -(1-4). Con ello, los glicanos que la conforman poseen la misma configuración en el carbono 1 y 4, lo que provoca una estructura similar. Por consiguiente, se sugiere que la hemicelulosa debe ser utilizada para describir a los polisacáridos que presenten esta configuración y las mismas propiedades de solubilidad (Scheller y Ulvskov, 2010). De esta manera, la hemicelulosa incluye arabinoxilanos, xiloglucanos, glucomananos, galactomananos y β -glucanos, siendo este último controversial al ser incluido dentro de esta categoría (Galanakis, 2019).

En otro orden de ideas, es importante mencionar que alrededor de un tercio de la FD de las verduras, frutas, leguminosas y frutos secos consiste en hemicelulosas, lo cual

podría ser favorable para el consumidor ya que se ha asociado a la hemicelulosa con distintos efectos a favor de la salud (Mudgil y Barak, 2013). Concretamente, con la mejora del tránsito gastrointestinal, al aumentar la hidratación de las heces, y previniendo la absorción del colesterol. Adicionalmente, se ha descrito que la hemicelulosa influye en el aumento de bacterias benéficas del intestino, así como en la producción de AGCC (Ciudad *et al.*, 2019).

β -glucanos

Los β -glucanos son polímeros de glucosa que forman una estructura ramificada por medio de sus enlaces β -(1-3), β -(1-4), y β -(1-6). Generalmente, el tipo y la cantidad de enlaces que presenten los β -glucanos dependerá de su origen. Los β -glucanos se obtienen de cereales, tales como la avena y la cebada, sin embargo, también se encuentran en algas, hongos y levaduras; por lo que la estructura cambiará dependiendo la procedencia. De esta forma, los cereales están formados por unidades de glucosa con interacciones β -(1-3), β -(1-4), mientras que los β -glucanos de hongos y levaduras por lo general presentan enlaces β -(1-6) (Du y Xu, 2014). Es importante mencionar, que la estructura ramificada y el menor tamaño de los β -glucanos, en comparación con la celulosa, hacen a este polisacárido soluble, permitiéndole formar soluciones viscosas (Mudgil y Barak, 2013). Esta propiedad presente en los β -glucanos se ha asociado con varias funciones fisiológicas a favor de la salud, en particular disminuye la respuesta postprandial de glucosa e insulina, así como los niveles de colesterol. (Mudgil, 2017).

Almidón resistente

El almidón es un polisacárido compuesto por unidades monoméricas de glucosa unidas mediante enlaces α -(1-4) y α -(1-6). Principalmente, el almidón está formado por dos estructuras fundamentales denominadas amilosa y amilopectina. Por un lado, la amilosa es un polímero lineal, por lo que las glucosas que la conforman se unen por medio de enlaces α -(1-4), mientras que la amilopectina es una estructura ramificada con enlaces α -(1-4) y α -(1-6) (Sajilata *et al.*, 2006). Generalmente, las moléculas de almidón son hidrolizadas por amilasas y son digeridas en el intestino delgado de un individuo sano, sin embargo, se entiende como almidón resistente al almidón o productos de su degradación que resisten este proceso de digestión y que a su vez sufren de degradación bacteriana en el intestino grueso (Hernandez, 2010; Mudgil, 2017; Galanakis, 2019). De acuerdo con la literatura, diversos factores como la forma física del alimento, la retrogradación y factores extrínsecos pueden influir en el porcentaje de almidón que resiste a la digestión.

De esta manera, el almidón resistente se clasifica en cuatro clases fundamentales: tipo I (almidón físicamente inaccesible), tipo II (granulos de almidón nativo), tipo III (almidón retrogradado), tipo IV(almidón modificado químicamente); mismos que se han asociado con una reducción en los niveles de glucosa e insulina postprandial (Sajilata *et al.*, 2006; Rivera, 2008; Haub *et al.*, 2010).

Lignina

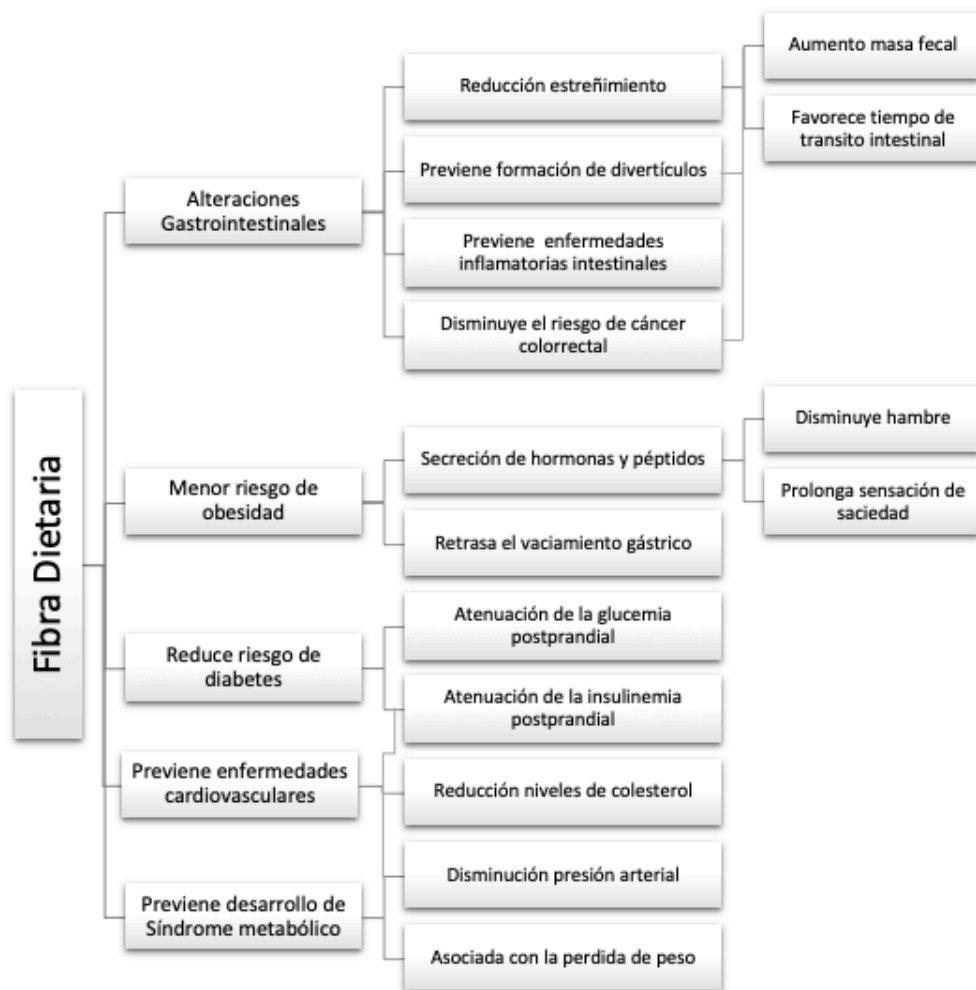
La lignina es uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza. Específicamente, este polímero se encuentra presente en las plantas, donde desempeña un papel importante para el transporte de agua, nutrientes y metabolitos, así como de rigidez (Chávez y Domine, 2013). La lignina no es considerada un

polisacárido, sin embargo, presenta asociaciones con los componentes de la FD, como la hemicelulosa, en la pared de las células vegetales. Esta asociación, junto con su condición de insolubilidad se ve reflejada en algunas de las propiedades fisiológicas gastrointestinales, por lo que se incluye en el concepto de FD (Galanakis, 2019). Estructuralmente, la lignina es un conjunto de macromoléculas de alto peso molecular que resultan de la unión de varios alcoholes fenilpropílicos (cumarílico, coniferílico y sinapílico). Estos componentes dan origen a una estructura tridimensional de carácter complejo y amorfo, por lo que no se le atribuye una estructura definida (Lin y Dence, 2012). Por último, es importante mencionar que las moléculas de lignina poseen la característica de ser resistentes a la degradación química y enzimática, así como a la bacteriana, por lo cual presenta mayor resistencia a las secreciones digestivas, en comparación con otros compuestos naturales (Galanakis, 2019).

Efectos fisiológicos de la fibra dietaria

Actualmente, la FD es considerada como uno de los componentes dietarios más importantes gracias a los efectos benéficos generados en el consumidor (Lattimer y 2010). Se ha hecho evidente, que los diferentes componentes y propiedades de la fibra dietaria tienen efectos fisiológicos distintos que podrían prevenir o ayudar en el tratamiento de algunas enfermedades **Figura 2**. (Fuller *et al.*, S., 2016; Li y Komarek, 2017; Chen *et al.*, 2018; Müller *et al.*, 2018). Con esto en mente, los individuos con una ingesta adecuada de FD parecen tener un menor riesgo de desarrollar enfermedades y alteraciones metabólicas; a continuación se describen algunos de los mecanismos relacionados.(Lupton *et al.*, 2002; Li y Komarek, 2017).

Figura 2. Efectos fisiológicos de la fibra dietaria y mecanismos relacionados



Hernandez, 2010; Fuller et al., 2016

Por un lado, la FD es capaz de reducir el riesgo de obesidad por medio de diferentes mecanismos, entre los que se encuentra la reducción del vaciamiento gástrico y la secreción de hormonas y péptidos, como la colecistoquinina (CCK), el glucagón 1 (GLP-1) y el péptido YY (PYY). Se ha sugerido, que estos mecanismos disminuyen el hambre y prolongan la sensación de saciedad (Müller *et al.*, 2018). Por otro lado, diversos estudios observacionales han reportado que existe una asociación inversamente proporcional entre el consumo de FD y la aparición de diabetes mellitus (Yao *et al.*, 2017). Los mecanismos de acción por los cuales la FD es capaz de mejorar

la homeostasis de la glucosa siguen siendo controversiales, sin embargo, factores como el vaciamiento gástrico y la reducción en la accesibilidad de las enzimas intestinales para hidrolizar los polisacáridos, gracias a la interferencia de la matriz de la FD, así como la disminución de la insulinoresistencia, pueden ser los causantes de dicho beneficio (Hernandez, 2010; Müller, 2018).

Adicional a lo ya mencionado, se ha descrito que la FD tiene un papel preventivo sobre el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Lo anterior, se debe principalmente a la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol, principalmente el colesterol LDL (Fuller, *et al.*, 2016). De esta manera, se ha sugerido que el secuestro de los ácidos biliares por parte de la FD tiene un efecto en el metabolismo del colesterol. En concreto, cuando los ácidos biliares son retenidos en la matriz de la FD y expulsados por las heces, es necesario compensar la pérdida de estos ácidos biliares; por lo tanto, las células hepáticas se ven forzadas a formar ácidos biliares primarios a partir del colesterol. Cabe resaltar, que si el colesterol degradado no es compensado por un aumento en su síntesis, este será captado del colesterol circulante, disminuyendo así sus niveles plasmáticos (Hernandez, 2010). Por otro lado, al igual que la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol, la pérdida de peso, la disminución de la presión arterial y la mejora de la resistencia a la insulina también forman parte del papel protector de la FD (Li y Komarek, 2017). Todas estas ideas, permiten inferir que la FD puede también prevenir, e incluso beneficiar, las diferentes patologías ligadas a la aparición del síndrome metabólico (Aleixandre y Miguel, 2008).

A pesar de que generalmente el consumo de FD está asociado con un menor riesgo de enfermedades crónicas y alteraciones metabólicas (Lattimer y Haub, 2010), diferentes estudios de intervención muestran que la respuesta metabólica generada por el consumo de fibra varía entre individuos, por lo que podría cuestionar las

recomendaciones dietéticas normalizadas. De este modo, diferentes factores como la genética, las características de los individuos, la dieta habitual, la composición de la comida y el contexto en el que se consumen los alimentos, se han visto implicados en la respuesta metabólica posprandial, lo cual podría aclarar la variación entre individuos ante la ingesta de FD (Berry *et al.*, 2020). Adicionalmente, se ha sugerido que la MI podría estar influyendo en la respuesta metabólica, ya que la presencia de diferentes perfiles microbianos intestinales pueden estar influyendo en la forma en que se metabolizan los diferentes componentes de la dieta (Christensen *et al.*, 2018; Rodriguez *et al.*, 2020).

Microbiota

Microbiota intestinal y sus funciones

La microbiota hace referencia al conjunto de microorganismos vivos que son residentes en un nicho ecológico determinado, donde se incluye no sólo bacterias sino también hongos virus y protozoos. Mientras tanto, el microbioma extiende la definición incluyendo a la población total de microorganismos con sus respectivos genes y metabolitos (Icaza, 2013; Jandhyala *et al.*, 2015). Concretamente, la microbiota intestinal es una de las comunidades más numerosa, diversa y densamente poblada en la naturaleza, ya que incluye especies nativas, que colonizan permanentemente, al igual que microorganismos que solo forman parte del ecosistema de manera transitoria. Se ha estimado, que el tracto gastrointestinal está poblado por aproximadamente 10^{14} bacterias y que posee una biomasa microbiana de 0.15 Kg en adultos (Icaza, 2013; Costea *et al.*, 2018). La composición bacteriana varía considerablemente a lo largo del tracto gastrointestinal debido a las diferentes condiciones ambientales, tales como niveles de oxígeno, presencia de ácidos biliares

y enzimas digestivas, así como tiempo de tránsito. Específicamente, el estómago y el duodeno cuentan con 10^3 UFC por gramo de contenido, mientras que aumentan progresivamente de 10^4 UFC en el yeyuno a 10^8 UFC en el íleon. (Guarner, 2011; Azcarate- *et al.*, 2019). Por otro lado, se ha observado que en el colon el tiempo de tránsito disminuye, lo que permite la proliferación de las bacterias, en virtud de la fermentación de los diferentes sustratos provenientes de la dieta. Por ello, el colon se encuentra densamente poblado de bacterias anaerobias, ascendiendo a 10^{11} UFC por gramo de contenido (Guarner, 2011). Como resultado del extenso número de bacterias en el intestino, se ha hecho evidente que la MI tiene funciones en la nutrición, la inmunidad y la inflamación sistémica; por lo tanto, se considera como un órgano más, integrado en la fisiología de los individuos (Guarner, 2011; Sebastián y Sánchez, 2018). De esta forma, se ha sugerido que la MI a través de funciones fisiológicas, como el fortalecimiento de la integridad intestinal o la formación del epitelio intestinal, la extracción de energía, la protección contra los patógenos y la regulación de la inmunidad del hospedero, puede condicionar la homeostasis de los individuos (Thursby y Juge; 2017).

Particularmente, entre las funciones metabólicas de la MI, hay que destacar la capacidad para transformar a los polisacáridos complejos de la dieta en monosacáridos y AGCC. Estos últimos son aprovechados por las células del epitelio intestinal como sustrato energético para mantener su integridad y función, además de que se han visto asociados con varios efectos a favor de la salud, como efectos antiinflamatorios o reduciendo los niveles séricos de colesterol y glucosa (Sebastián y Sánchez, 2018). Así mismo, se ha visto que la MI ejerce un importante papel en la respuesta inmune del hospedero, ya que forma una barrera intestinal funcional y regula la respuesta inmune, al mantener el equilibrio microbiano y prevenir el

reemplazo por microorganismos patógenos (Alarcón *et al.*, 2016). Adicional a lo ya mencionado, se ha descrito la capacidad de la MI de metabolizar xenobióticos y fármacos, así como de influir en la salud del hospedero por medio de diferentes mecanismos. Por ello, una pérdida en el balance composicional de la MI, conocida como disbiosis, generada por aumento de protobiontes, reducción de bacterias benéficas y/o disminución de la diversidad bacteriana, se ha visto asociada con varios problemas de salud como enfermedades inflamatorias crónicas, metabólicas y mentales, así como asma y obesidad, entre otras (Icaza, 2013; Padrón, 2019).

De acuerdo con la literatura, los diferentes componentes de la dieta, junto con factores genéticos y ambientales pueden influir en la presencia de unos microorganismos sobre otros, por consiguiente, la composición de la MI difiere en más de la mitad entre cada individuo (Padrón, 2019). De tal forma, no existe una descripción sencilla que pueda englobar la complejidad del ecosistema intestinal (Costea *et al.*, 2018). No obstante, existe un interés por identificar los patrones composicionales, ya que estos pueden habilitar un mayor entendimiento en la relación entre la dieta y los rasgos metabólicos; y con ello generar una categorización de la población para brindar una respuesta más eficiente basada en intervenciones nutricionales y farmacéuticas (Christensen *et al.*, 2018).

Factores que influyen en la composición de la microbiota intestinal

Como se mencionó con anterioridad, varios factores influyen en la composición y colonización de la MI, los cuales persisten de manera continua a lo largo de la vida de las personas. Se ha observado, que la colonización inicial se lleva a cabo durante el nacimiento. De esta manera, el parto tiene una influencia en la composición de la microbiota de los bebés, ya que por lo general los bebés nacidos por cesárea tienen

mayor probabilidad de ser colonizados por bacterias presentes en la piel de la madre, mientras que los bebés que nacen vía vaginal son colonizados por bacterias presentes en el tracto gastrointestinal y vaginal (Jandhyala *et al.*, 2015; Floch *et al.*, 2016). Adicionalmente, los perfiles fecales microbianos de los bebés nacidos vía vaginal así como de aquellos alimentados por el seno materno se asemejan más a los de su madre, en comparación con aquellos nacidos por cesárea y que son alimentados con fórmula (Icaza 2013; Thursby y Juge, 2017).

Posterior a la colonización inicial, en las primeras semanas y durante las primeras etapas de desarrollo, la MI parece inestable, es decir, la composición de la microbiota es poco diversa y con gran variabilidad. No obstante, la composición microbiana se diversifica y se estabiliza en la edad adulta, siendo la dieta, los antibióticos y los diferentes factores ambientales los responsables de las alteraciones sobre la MI (Ishiguro *et al.*, 2018). En particular, la dieta es uno de los factores más determinantes de MI, ya que los componentes presentes en la dieta son utilizados como fuente de energía, confiriendo ventajas de crecimiento a taxones microbianos específicos (Graf *et al.*, 2015). Adicionalmente, la dieta puede alterar el pH del lumen, regular la tasa del tracto intestinal, así como estimular la secreción de ácidos biliares y otros componentes, lo que contribuye en la composición de la MI (Azcarate *et al.*, 2019). Por otra parte, se ha observado que el uso de antibióticos tiene implicaciones a corto y largo plazo sobre la MI. Se ha sugerido, que el uso de antibióticos puede causar un desacoplamiento en la relación mutualista entre la MI sana y el ambiente intestinal del hospedero, gracias a una perturbación en la capacidad de exclusión competitiva o desarrollo de genes de resistencia, que podría resultar en una infección (Jandhyala *et al.*, 2015). Por otro lado, también se ha descrito que tanto la etnia como la región geográfica de las personas influyen sobre la MI, sin embargo, no está claro qué

aspectos constituyen las asociaciones observadas ya que podrían ser las actividades relacionadas con la cultura o la genética los causantes de la similitud en la MI. No obstante, como las historias genealógicas, demográficas y culturales de los seres humanos suelen estar entrelazadas, las influencias de los factores genéticos y ambientales pueden ser difícilmente dilucidadas (Moeller y Ochman, 2013; Gaulke y Sharpton, 2018).

Finalmente, con base en lo anterior, podemos sugerir que la MI de los individuos puede estar influenciada por varios factores, ya sean hereditarios o externos. Se ha observado que, las muestras obtenidas a lo largo del tiempo del mismo individuo son más similares entre sí que las obtenidas de individuos diferentes, lo que sugiere que cada persona tiene una comunidad relativamente distinta y estable. Esta característica, podría estar relacionada con el concepto de que existen estados de equilibrio estables para la microbiota, y que a pesar de las perturbaciones, la comunidad sigue siendo atraída por una composición central (Lozupone *et al.*, 2012). De esta forma, con la finalidad de reducir la gran variación inter-individual observada entre las comunidades microbianas, se ha propuesto que agrupar a los individuos con base en estados estables o perfiles microbianos similares; podría servir para estratificar a la población y con ello predecir una respuesta más eficiente basada en una nutrición y/o medicina personalizada.

Enterotipos

Como se sabe, el intestino se encuentra densamente poblado por miles de especies bacterianas. En la actualidad, cuando se busca habilitar una mayor comprensión de la MI, una posible opción es mediante una categorización que asigne el perfil microbiano de un individuo a un determinado grupo, denominado enterotipo (Costea

et al.,2018). Desde que se propuso este patrón en el 2011, dicha agrupación se ha basado en la abundancia de taxones característicos, siendo *Prevotella* y *Bacteroides* los más contundentes, seguido por una representación de Firmicutes, donde predomina *Ruminococcus* (Arumugam *et al.*, 2011). Diferentes estudios han mostrado que, después de la colonización inicial, *Bacteroides* spp. y *Prevotella* spp. se encuentran negativamente correlacionados, dada la competencia que presentan por los nutrientes del ecosistema intestinal; por lo que la abundancia de cada género será impulsada por los factores ambientales presentes en cada individuo (Christensen *et al.*, 2018; Roager *et al.*, 2014).

Se ha sugerido, que en los primeros meses de vida, específicamente entre los 9 y 36 meses de edad, el enterotipo se establece en el intestino y se mantiene estable en el tiempo (Roager *et al.* ,2014); siendo independiente de la edad, género, origen cultural y geográfico (Christensen *et al.*, 2018). No obstante, se sugiere que la dieta es un factor que se asocia con el enterotipo presente en los individuos. De esta manera, la dieta de las personas que viven en los países occidentales o zonas urbanas, suelen ser bajas en fibra y con un alto contenido de grasas y proteínas; lo que se ve reflejado con la presencia del enterotipo *Bacteroides*, y en algunos casos *Ruminococcus*. Mientras tanto, las dietas no occidentales o rurales, son ricas en carbohidratos complejos, y suelen estar asociadas con el enterotipo *Prevotella* (Wu *et al.*, 2011; Christensen *et al.*, 2018; Precup y Vodnar, 2019). Consistente con lo anterior, el enterotipo *Bacteroides* se ha caracterizado por poseer principalmente enzimas con potencial proteolítico. Así mismo, al igual que el enterotipo *Bacteroides*, se ha descrito que el enterotipo enriquecido con *Ruminococcus* posee un potencial proteolítico y cierta actividad celulósica; mientras que el enterotipo *Prevotella* se ha descrito con hidrolasas aptas para degradar una amplia variedad de polisacáridos vegetales

complejos (Vieira *et al.*, 2016; Costea *et al.*, 2018). Es por lo anterior, que se ha propuesto que la composición taxonómica desempeña un papel importante en el metabolismo y la extracción de energía de los diferentes alimentos, que eventualmente contribuirá en sus propiedades funcionales.

Esta estratificación de la comunidad intestinal por enterotipos podría habilitar una mayor comprensión de la respuesta de los individuos ante los diferentes medicamentos, dietas y enfermedades, gracias a las diferencias que presentan en cuanto a preferencias de sustratos y capacidad de digestión (Christensen *et al.*, 2018). De este modo, esta clasificación puede servir como indicador de riesgo para el desarrollo de ciertas condiciones, además de brindar ayuda en el tratamiento de enfermedades. Aunado a lo anterior, los enterotipos podrían ser considerados biomarcadores prometedores en la medicina y nutrición personalizada, los cuales serían una herramienta sumamente útil para el estudio de la comunidad microbiana humana.

Relación entre la fibra dietaria y la microbiota intestinal

Como se mencionó anteriormente, muchos factores son responsables de la composición de la MI, sin embargo, la relación entre la FD y la MI es uno de los factores más influyentes. Se sabe que la FD es la principal fuente de energía de las bacterias del colon; por lo tanto, esta puede impactar directamente en el mantenimiento y en la mejora de la MI, principalmente cuando existe una disbiosis (Hamaker y Tuncil, 2014; McCrory, 2018). El consumo de dietas ricas en fibra proporciona sustratos para la actividad microbiana y con ello también aumenta las concentraciones de los productos de fermentación generados en el colon por bacterias anaeróbicas.(Hernandez, 2010; Wang *et al.*, 2019). De manera reciproca, los

metabolitos y moléculas de origen microbiano como los AGCC, los lipopolisacáridos (LPS), los ácidos biliares secundarios y algunos gases pueden influir en la composición de la microbiota intestinal y en su funcionalidad (Müller *et al.*, 2018). Principalmente, hay que resaltar a los AGCC, los cuales se han caracterizado como uno de los principales productos de la fermentación microbiana de carbohidratos no digeribles. De manera específica, son ácidos grasos formados por entre 1 y 6 átomos de carbono, siendo acetato, propionato y butirato los más producidos, en una proporción 60:20:20 respectivamente (Wong *et al.*, 2006). Aun cuando las siguientes funciones podrían parecer controversiales, se ha sugerido que los AGCC pueden ser utilizados para la síntesis de lípidos y glucosa, lo cual sugiere una fuente adicional de energía para el cuerpo (Sanz y Santacruz, 2008). No obstante, también se han visto relacionados con efectos benéficos sobre la resistencia a la insulina, el metabolismo de glucosa y lípidos, así como en la regulación de presión sanguínea (Canfora *et al.*, 2015). Aunado a lo anterior, se ha descrito que los AGCC pueden servir como moduladores de pH y/o como moléculas reguladoras de procesos metabólicos para mantener la homeostasis de la energía, así como para la regulación del apetito y expresión de genes (Wong *et al.*, 2006). Por consiguiente, su producción por parte de la microbiota desempeña un papel clave en la salud del colon, así como en la prevención y el tratamiento de ciertas enfermedades.

Justificación

En los últimos años, los avances en el campo de la nutrición personalizada han demostrado de forma contundente que la respuesta metabólica a alimentos específicos es individual y depende en parte de la composición de la microbiota intestinal (Hjorth *et al.*, 2020). En este sentido y con base en lo reportado en algunos estudios, la estratificación por enterotipos intestinales permite mayor comprensión sobre la relación entre la dieta y la respuesta metabólica de los individuos (Vieira-Silva *et al.*, 2016; Costea *et al.*, 2018; Christensen *et al.*, 2019). Particularmente, un estudio previo de nuestro grupo de investigación, realizado en niños entre 5 y 12 años de la Ciudad de México, mostró que aquellos niños clasificados con el enterotipo Prevotella presentaron una correlación negativa entre el consumo de FD insoluble y los marcadores de resistencia a la insulina, específicamente con el HOMA-IR y la insulina en suero (Martínez, 2020). A pesar de lo anterior, aún se desconoce la influencia de los enterotipos en la relación entre la ingesta de componentes de FD y los rasgos metabólicos en otras poblaciones o grupos de edad. Por ello, a través de este estudio se busca reconocer la influencia de los enterotipos en la relación entre la ingesta de componentes de FD y los rasgos metabólicos en adultos mexicanos; lo cual permitirá la categorización de la población para brindar una respuesta más eficiente basada en una nutrición personalizada.

Hipótesis

Los individuos clasificados dentro del enterotipo Prevotella, presentarán una asociación negativa entre el consumo de los diferentes tipos de fibra dietaria y los marcadores de la resistencia a la insulina.

Objetivos

Objetivo general

Conocer si el enterotipo de la microbiota intestinal influye en la relación entre el consumo de los diferentes tipos de fibra y el fenotipo metabólico, en una muestra de población mexicana adulta.

Objetivos específicos

- Establecer la asociación entre el consumo de los diferentes componentes de la fibra dietaria y los parámetros metabólicos
- Mostrar la presencia de los enterotipos de la microbiota intestinal en la población de estudio
- Establecer la asociación de la fibra dietaria con los rasgos metabólicos en los diferentes enterotipos

Procedimiento Experimental

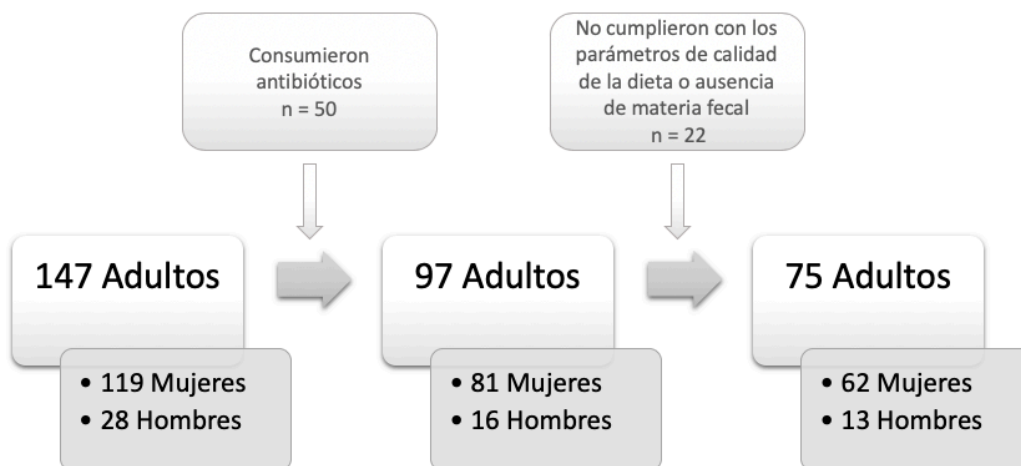
Muestra de estudio y recopilación de datos

Los adultos incluidos en este estudio fueron reclutados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, mediante la técnica de muestreo no probabilístico por conveniencia. En otras palabras, los adultos incluidos se encontraban convenientemente disponibles para formar parte del presente estudio. Por otro lado, este estudio transversal fue aprobado por el Comité de Ética de las instituciones participantes (Instituto Nacional de Medicina Genómica y Hospital Infantil de México) y elaborado conforme a lo estipulado en la declaración II de Helsinki (World Medical Association, 2013).

Criterios de selección

Los criterios de inclusión de la muestra de estudio, consisten en edades comprendidas entre los 18 y 60 años, consentimiento informado firmado y haber completado el cuestionario que proporcionaba información sobre factores sociodemográficos, antecedentes familiares, actividad física y hábitos alimentarios. Por otro lado, los criterios de exclusión incluyen, reporte de enfermedades crónicas y/o eventos agudos como cirugías o enfermedades, así como autoinformes de uso de antibióticos en los últimos tres meses o al momento del estudio. Por último, los criterios de eliminación se basaron en información alimentaria deficiente o sin respuesta, consumo de kilocalorías totales mayor a 2.5 desviaciones estándar de la media, es decir mayor a 2949.33 Kcal, y ausencia de muestra fecal.

Figura 3. Aplicación de los criterios de selección sobre la muestra de estudio



Parámetros antropométricos

En cuanto a los datos antropométricos de los adultos, las medidas obtenidas mediante procesos estandarizados y siguiendo las recomendaciones que reporta Lohman et al. fueron el peso (Kg), la talla (cm), circunferencia de cintura (cm) y de cadera (cm)

(Lohman *et al.*, 1988). Posteriormente, con los datos anteriores se obtuvo el índice de masa corporal (IMC), mediante la razón matemática $IMC = \frac{peso}{talla^2}$, así como diferente información sobre la complexión corporal de los participantes (de la Torre, 2002). El estado nutricional de los adultos se determinó con base en los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (World Health Organization, 2000; Colchero *et al.*, 2014). Los valores de corte para la población de adultos se presentan en la **Tabla 1**. Con relación a la presión arterial (mm Hg), esta se midió una vez, en posición sentada, a través de un baumanómetro de mano digital (Microlife); el cual fue previamente calibrado realizando cinco mediciones consecutivas, método establecido por el fabricante. Para el análisis se utilizó el promedio de las mediciones.

Tabla 1. Cortes para la clasificación del estado nutricional con base en los criterios de la OMS

Estado nutricional	IMC (Kg/m ²)
Bajo peso	<18.5
Normopeso	18.5 a 24.9
Sobrepeso	25 a 29.9
Obesidad	≥ 30

World Health Organization, 2000

Toma de muestra de sangre y análisis bioquímicos

Se tomó una muestra de 5 mL de sangre periférica después de 8 a 12 horas de ayuno. Para las muestras de suero, se esperó un período de 30 minutos para la coagulación antes de la separación del suero y luego se almacenó a -80 °C para su posterior análisis. Posteriormente, en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán se realizaron las determinaciones de glucosa (mg/dL), colesterol total (mg/dL) y triglicéridos (mg/dL)

mediante métodos enzimáticos colorimétricos, utilizando los kits de Beckman Coulter. Así mismo, se establecieron los valores del colesterol HDL (mg/dL) mediante ácido fosfotúngstico y Mg^{2+} , así como del ácido úrico (mg/dL), el aspartato transaminasa (UI/L)(AST), la alanina transaminasa (UI/L)(ALT) y la gamma glutamil transferasa (UI/L)(GGT) mediante métodos estandarizados (UNICEL DxC 600, Beckman coulter). El colesterol LDL se calculó por medio de una diferencia entre el colesterol total y el colesterol HDL (Moran *et al.*, 2017). Finalmente, la insulina se determinó utilizando un sistema de inmunoensayo Access 2 (Beckman coulter), mientras que la sensibilidad a la insulina se estimó indirectamente con la evaluación del modelo de homeostasis para la resistencia a la insulina (HOMA-IR), mediante la fórmula (glucosa en ayunas (mg/dL) x insulina en ayunas ($\mu U/mL$)) / 405. El corte para determinar a los individuos con resistencia a la insulina fue de HOMA-IR > 2.4 (González *et al.*, 2008).

Análisis de composición corporal

Para estimar la composición corporal se utilizó bioimpedancia eléctrica, método no invasivo basado en impedimentos eléctricos que toma en consideración la edad, la talla, el peso, el sexo y la complexión corporal. Particularmente, la estimación de la composición corporal se realizó con el equipo Quantum X Body Composition Analyzer, RJA Systems.

Clasificación Síndrome Metabólico

Los criterios para la determinación de síndrome metabólico en adultos se encuentran reportados en la **Tabla 2** y fueron establecidos de acuerdo a los parámetros del Adult Treatment Panel (ATP III) (Cornier *et al.*, 2008). Concretamente, cuando un individuo presenta tres o más factores de riesgo se determina con síndrome metabólico.

Tabla 2. Criterios para la determinación de síndrome metabólico.

Factor de Riesgo	Valores de definición
Obesidad Abdominal (circunferencia de cintura)	
Mujeres	≥ 88 cm (35 pulgadas)
Hombres	≥ 102 cm (40 pulgadas)
Triglicéridos	≥ 150 mg/dL
Colesterol HDL	
Mujeres	< 50 mg/dL
Hombres	< 40 mg/dL
Presión Arterial	≥ 130/ 85 mm Hg
Glucosa en ayuno	≥ 110 mg/dL

Cornier *et al.*, 2008

Evaluación de la ingesta diaria habitual

La evaluación de la dieta se realizó por medio del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (CFCA), ya que es uno de los métodos más utilizados en los estudios epidemiológicos para evaluar la exposición nutricional a largo plazo (Hernández *et al.*, 1998). Se preguntó a los adultos participantes el número de veces por semana o día que consumieron cada tipo de alimento, los tamaños habituales de las porciones y el total de las porciones consumidas para cada alimento. Concretamente, el CFCA incluía 107 alimentos clasificados en 27 grupos de alimentos y con diez opciones de frecuencia: "nunca", "menos de 1 vez por mes", "1 a 3 veces por mes", "1 vez por semana", "2 a 4 veces por semana", "5 a 6 veces por semana", "1 vez por día", "2 a 3 veces por día", "4 a 5 veces por día" y "6 veces por día". De esta forma, se logró obtener información sobre la dieta habitual de los adultos en el último año (Hernández *et al.*, 1998; Flores *et al.*, 2010).

Posteriormente, se analizó cada cuestionario mediante el programa informático Sistema de Evaluación de Hábitos Nutricionales y Consumo de Nutrientes (SNUT), el cual permite estimar el consumo de energía y nutrientes de la dieta, basado en los

cuadros de composición de alimentos compilados por el Instituto Nacional de Salud Pública (Hernández *et al.*, 2003). Particularmente, dentro de este método cuantitativo, se incluye el contenido de fibra total, soluble e insoluble, así como estructuras particulares como la hemicelulosa, la celulosa y la lignina. Cabe señalar que, el consumo de la FD, así como el de sus diferentes estructuras, fue estandarizado por el consumo de 1000 kilocalorías por día; con la finalidad de reducir la posible variación, causada por la diferencia en la ingesta total de energía, en las asociaciones observadas. (Willett *et al.*, 1997).

Ingesta Adecuada de Fibra Dietaria

Para evaluar la ingesta total de fibra, se utilizó la Ingesta Adecuada (IA) establecida por la Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine of the National Academies (Lupton *et al.*, 2002). Los valores de corte se presentan en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Cortes para la clasificación de la Ingesta Adecuada de fibra dietaria

Edad	Mujeres	Hombres
≤50 años	25 g por día	38 g por día
>50 años	21 g por día	30 g por día

Lupton *et al.*, 2002; Li y Komarek, 2017

Caracterización de la microbiota intestinal y estratificación del enterotipo

Muestras fecales y extracción de DNA

Se le solicitó a los adultos participantes que colectaran en un recipiente de plástico estéril una muestra fecal. Estas fueron refrigeradas en casa y transportadas al centro de investigación dentro de un periodo de 12 horas después de su recolección (López

et al., 2018). Todas las muestras se recibieron en el centro de investigación a primera hora de la mañana; se realizaron alícuotas de 250 mg en tubos de microcentrífuga de 2 mL y se almacenaron a -70 °C. El DNA, se extrajo de 250 mg de materia fecal mediante Power Fecal DNA kit conforme a las instrucciones del fabricante (**Apéndice 1**; QIAGEN, Agosto 2017).

Amplificación de la región V4 del gen 16S del ARN ribosomal

Posterior a la extracción del DNA, se realizó la amplificación de la región hipervariable V4 (254 pares de bases) del gen 16S ribosomal, como se describe previamente (López *et al.*, 2018). El gen 16S ribosomal es la macromolécula más utilizada en estudios de filogenia y taxonomía bacteriana. Lo anterior, se debe a que el gen se encuentra presente en todas las bacterias, su estructura y función han permanecido constante a lo largo del tiempo, su tamaño reduce la variación estadística y posee regiones hipervariables que aportan información sobre las diferentes especies que conforman la microbiota humana (del Rosario Rodicio *et al.*, 2004). Por ello, el procedimiento consistió en realizar una primera amplificación del gen, donde se utilizaron los oligos 515F y 806R (The Earth Microbiome Project Data Site). Se realizó una mezcla de la enzima Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity y el Primer Universal Forward y se prosiguió a añadir 23 µL de la mezcla en cada uno de los 96 pozos de la placa para PCR. Así mismo, se adicionó el Primer Reverse y la muestra del DNA en un diseño 24 x 4. Es importante señalar, que cada uno de los componentes anteriores son necesarios para efectuar la reacción, ya que son componentes que influyen en la PCR. Concretamente, la muestra de DNA contiene la región que se va a amplificar, mientras que los primers la delimitan y la Taq DNA Polimerasa la copia. Aunado a lo anterior, se incluyó en la placa un control positivo y uno negativo para la verificación de la

reacción. Específicamente, el control positivo (comunidad mock), consistía en una mezcla de DNA conocido de diferentes microorganismos en proporciones conocidas, mientras que el control negativo fue agua grado biología molecular (no contiene DNA) que se empleó para determinar contaminaciones en la reacción. Finalmente, una vez que todos los reactivos se encontraban dentro de los pozos de la placa, se tapó y se colocó en el termociclador bajo las condiciones descritas en la **Figura 4** para llevar a cabo la desnaturalización, el alineamiento y la extensión correspondiente.

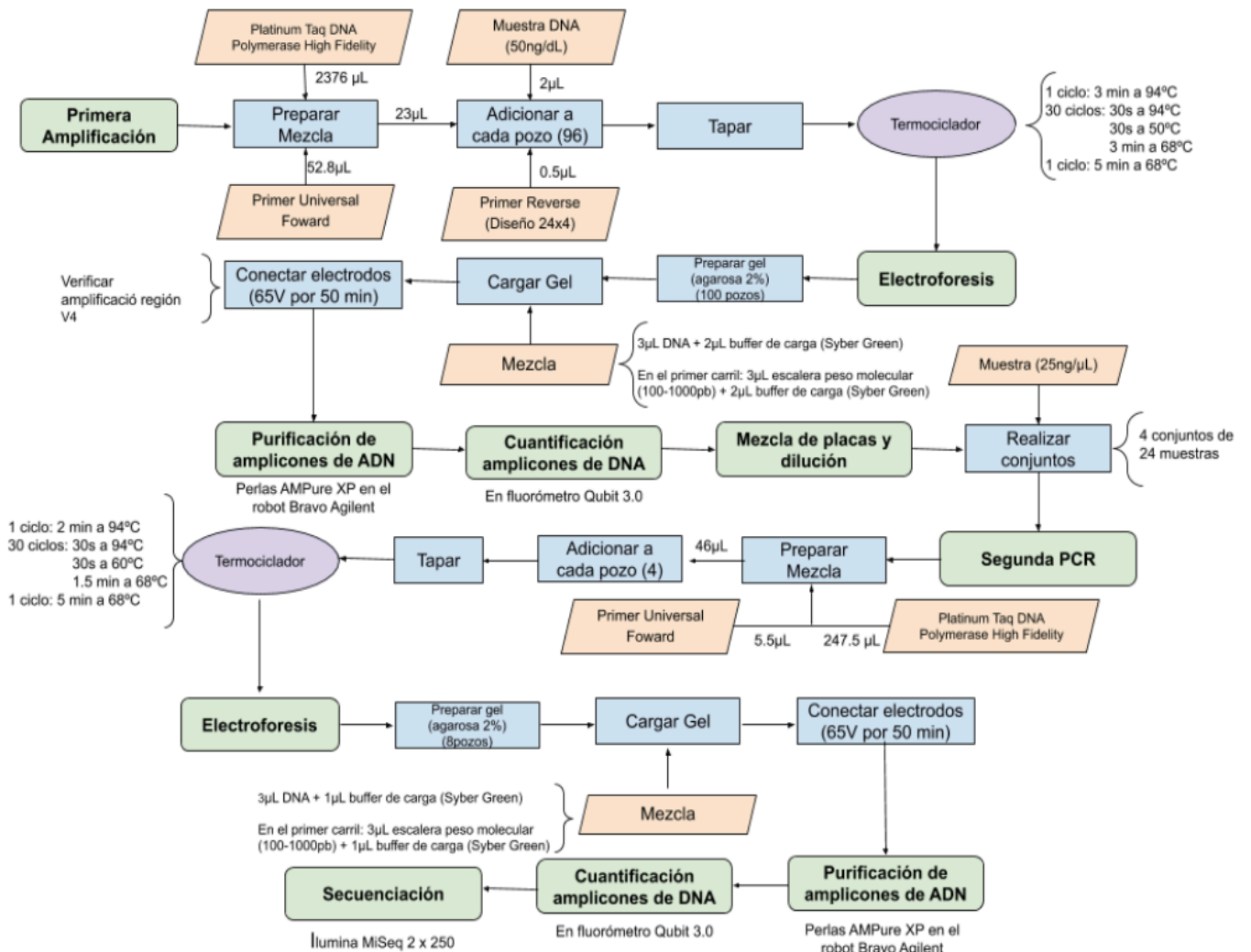
Al concluir la PCR, se realizó una electroforesis (65 V por 45 min) en gel de agarosa al 2% para comprobar la amplificación de las muestras. Se utilizó 1 μ L del buffer de carga Sybr green en cada pozo junto con la muestra, con la finalidad de que el buffer se acoplara a los ácidos nucleicos emitiendo fluorescencia y permitiendo la introducción de la muestra en el pocillo del gel. Hay que resaltar, que en el primer carril se colocó la escalera de peso molecular 100 a 1000 pb, con el fin de estimar el tamaño de los amplicones presentes en el resto de los pocillos.

Después de la electroforesis, se realizó la purificación de los amplicones de DNA mediante las perlas Agencourt Ampure en el robot Bravo Agilent para eliminar posibles contaminantes en las muestras. Esta técnica se basa principalmente en la carga negativa de los grupos fosfatos del DNA, lo que permite la unión de esta molécula a las perlas; facilitando los lavados con etanol y eventualmente la disolución en agua para la obtención del DNA purificado. Una vez purificados los amplicones, se continuó con la cuantificación de los mismos en el fluorómetro Qubit 3.0.

Una vez que los amplicones fueron purificados y cuantificados, se continuó con una segunda PCR en la cual se buscaba la incorporación de códigos de barras moleculares en cada producto previamente amplificado, así como la adición de secuencias necesarias para la unión de los adaptadores de Illumina requeridos para

el proceso de secuenciación. En concreto, para realizar la PCR se mezclaron los amplicones en cuatro conjuntos de veinticuatro muestras cada uno; los cuales contenían 25 ng de cada amplicón obtenido en la primera PCR. Posteriormente, a los cuatro conjuntos obtenidos se les adicionó un oligo reverse, así como la mezcla de la enzima Platinum Taq DNA Pollymerase High Fidelity y el Primer Universal Forward, descrita con anterioridad. La placa se tapó y se colocó en el termociclador bajo las condiciones descritas para la segunda PCR en la **Figura 4**. Los amplicones fueron purificados y cuantificados siguiendo la metodología antedicha; y finalmente se secuenciaron utilizando la plataforma MiSeq 2 × 250 de Illumina ubicada en la Unidad de Secuenciación del Instituto Nacional de Medicina Genómica (López *et al.*, 2018). En la **Figura 4** se ofrece una descripción completa y detallada del procedimiento realizado.

Figura 4. Metodología para la preparación de librerías



Procesamiento de las secuencias de amplicones del gen 16S rRNA

Para el procesamiento e interpretación de secuencias se utilizó el pipeline Quantitative Insight Into Microbial Ecology (QIME v 1.9) (Caporaso *et al.*, 2010). A los datos obtenidos se les realizó una demultiplexación y una filtración para eliminar las secuencias de baja calidad. Concretamente, las secuencias con un valor de Pared <30 fueron eliminadas; por lo que la precisión de las bases nombradas fue del 99.9%, es decir un error por cada 1000 bases. Posteriormente, se realizó la asignación taxonómica por medio del algoritmo UCLUST de referencia cerrada, donde se utilizó

la base de datos GreenGenes v13_08 y el 97% de identidad para la determinación de las Unidades Taxonómicas Operacionales (OTU) (Edgar, 2010). Adicionalmente, se evaluó la α -diversidad, la cual consiste en la riqueza y los índices de equidad de las especies; siendo la riqueza el número de especies por unidad de superficie o por muestra y los índices de equidad la abundancia relativa de las diferentes especies de una comunidad. Generalmente, la α -diversidad incluye cuatro parámetros: índice de Chao, Shannon y Simpson, así como las especies observadas (Thukral, 2017; Chen, 2020). Cabe señalar que para fines de este trabajo, la α -diversidad se evaluó mediante los índices Shannon y Chao1. Concretamente, el índice de Shannon es un estimador de riqueza y uniformidad, el cual da mayor peso a la riqueza de las especies; mientras que Chao1 es un método no paramétrico para estimar el número de especies en una comunidad (Kim *et al.*, 2017).

Por lo que se refiere a la identificación de enterotipos, esta se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Arumugam y colaboradores, sin embargo, este algoritmo puede ser susceptible a un tamaño de muestra pequeño (Arumugam *et al.*, 2011). Por ello, el análisis se realizó en un total de 200 muestras, donde se incluyó a los individuos participantes en este estudio así como una submuestra de otra cohorte de adultos mexicanos (León *et al.*, 2018). De manera general, se agruparon las abundancias relativas a nivel de género, particularmente se incluyeron los géneros cuya abundancia media en todas las muestras fuera superior al 0.01%, usando la distancia Jensen-Shannon y el algoritmo de agrupación de medioides en el paquete "cluster" en R (Koren *et al.*, 2013). Asimismo, para determinar el número óptimo de clusters se evaluaron los resultados anteriores por medio del índice Calinski-Harabasz. Por último, se realizó un análisis entre clases utilizando el paquete "ade4" en R, para

identificar los géneros determinantes de los enterotipos, así como para vincular cada muestra con su grupo.

Mediciones Ácidos grasos de cadena corta

Las mediciones de los ácidos grasos de cadena corta se realizaron en una subpoblación (n = 47) de nuestra muestra original. Estos se midieron a partir de las muestras de materia fecal de los individuos participantes por cromatografía de gases, en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, siguiendo la metodología establecida por Syeda y colaboradores. Concretamente, se suspendieron 50 mg de heces en 5 mL de agua y se homogeneizaron para obtener la suspensión fecal. El pH de la suspensión se ajustó a 2-3 añadiendo HCl 5M, y luego se mantuvo a temperatura ambiente durante 10 minutos con agitación ocasional. La suspensión se centrifugó durante 20 minutos a 5000 rpm y se recogió el sobrenadante. Al sobrenadante se le introdujo el estándar interno, solución de ácido 2-etilbutírico (1 mM en ácido fórmico), para finalizar la preparación de la muestra. Se inyectó 1 µl de la muestra en un cromatógrafo de gases Agilent (Agilent Technologies 6850 Serie II, Network GC System) con detección de ionización de llama, utilizando la columna DB-225 ms de Agilent J&W; donde el tiempo de ejecución para cada análisis fue de 17.5 min. Finalmente, el manejo de los datos obtenidos se realizó con un software HPChemStation Plus (A.09.xx, Agilent) (Syeda et al., 2018).

Análisis Estadístico

En cuanto al análisis de los datos obtenidos, se utilizaron los programas informáticos R Studio v1.2.5033 y SPSS v21. En primer lugar, se evaluó la normalidad de los datos por medio de la prueba Kolmogorov-Smirnov. En vista de que los datos no presentaron

una distribución normal, se obtuvieron las medianas y los rangos intercuartiles de las variables cuantitativas y las proporciones para las variables categóricas. Por otro lado, las comparaciones entre los enterotipos se realizaron mediante pruebas no paramétricas, particularmente la prueba U Mann-Whitney y Kruskal-Wallis; mientras que para los datos categóricos se utilizó la prueba Chi cuadrada.

En cuanto a los análisis exploratorios entre la ingesta habitual de FD y los rasgos metabólicos, se realizaron correlaciones parciales de Spearman. Así mismo, las correlaciones entre la FD y las variables antropométricas fueron ajustadas por edad y sexo, al igual que las correlaciones entre la FD y los valores bioquímicos. Estas últimas, fueron además ajustadas por el contenido de grasa corporal, ya que un elevado porcentaje de grasa corporal se ha visto asociado con alteraciones metabólicas. Se considero significancia estadística cuando $P < 0.05$

Resultados

Descripción de la muestra de estudio

Un total de 75 adultos mexicanos (17.3% hombres) con una mediana de edad de 39 años (RI: 34-42) fueron incluidos en este estudio; de los cuales 26.67% tenían bajo peso o normopeso y 73.3% presentaban sobrepeso u obesidad. Así mismo, se tenía información sobre las características de los individuos, por lo que se realizaron análisis descriptivos para caracterizar los datos antropométricos, clínicos y bioquímicos, así como el estado nutricional de la población; mismos que se presentan en la **Tabla 4**. De esta manera y de acuerdo a los criterios establecidos por el ATP III, se determinó que el 48% de los adultos tenían obesidad abdominal, mientras que el 29.33% presentó hipertrigliceridemia y el 6.67% mostró concentración de glucosa en sangre por arriba de 110 mg/dL. Así mismo, el 49.33% de los individuos participantes mostraron una hipoalfalipoproteinemia, mientras que un 6.67% de la población tenía presión arterial elevada. Aunado a las alteraciones metabólicas anteriores, se determinó que el 32.43% de los adultos participantes tenían síndrome metabólico, es decir, presentaron tres o más factores de riesgo. Mientras que el 20.27% de los adultos participantes fueron clasificados con resistencia a la insulina.

Por otro lado, al realizar una estratificación por sexo, se observaron diferencias significativas entre hombres y mujeres. Particularmente, algunos datos antropométricos presentaron diferencia entre sexo, como el porcentaje de masa libre de grasa ($P = 0.006$) que se encontró más elevado en los hombres, mientras que el porcentaje de grasa corporal ($P = 0.017$) fue mayor en las mujeres. Además, los hombres presentaron mayores niveles de transaminasas, AST ($P = 0.011$), ALT ($P = 4.12 \times 10^{-4}$) y GGT ($P = 0.004$); así como mayores niveles de ácido úrico ($P = 3.5 \times 10^{-5}$)

y creatinina ($P = 7.13 \times 10^{-7}$) en comparación con los datos bioquímicos reportados para las mujeres (Apéndice 2: Tabla 1).

Tabla 4. Resultados antropométricos, clínicos y bioquímicos de los 75 participantes de estudio

Sexo n (%)	Masculino Femenino	13 (17.3) 62 (82.7)
Estado Nutricio		n (%)
Bajo peso		1 (1.33)
Normopeso		19 (25.33)
Sobrepeso		35 (46.67)
Obesidad		20 (26.67)
Síndrome Metabólico		24 (32)
Resistencia a la insulina		15 (20)
		Mediana (RI)
Edad		39 (34 - 42)
Datos Antropométricos		
Peso [Kg]		69.2 (65-79)
Talla [cm]		160 (155.7-165.4)
Circunferencia de cintura [cm]		89 (83-96.5)
Circunferencia de cadera [cm]		104 (98-110)
Índice cintura/cadera		0.85 (0.81 - 0.90)
IMC [kg/m ²]		27.76 (24.82 - 30.42)
Composición Corporal		
Masa libre de grasa (%)		63.4 (56.28-68.9)
Grasa corporal (%)		35.3 (30.5 - 41.2)
Datos Clínicos		
Presión Arterial Sistólica [mmHg]		113.5 (100.75 - 122.25)
Presión Arterial Diastólica [mmHg]		73 (67 - 79.25)
Datos Bioquímicos		
Creatinina [mg/dL]		0.66 (0.58 - 0.74)
Acido Úrico [mg/dL]		4.8 (4.3 - 5.7)
Colesterol total [mg/dL]		192 (164 - 213)
Colesterol HDL [mg/dL]		48 (39 - 56)
Colesterol LDL [mg/dL]		117.2 (91.8 - 140.8)
Triglicéridos [mg/dL]		117 (95 - 177)
AST [IU/L]		22 (19 - 27.75)
ALT [IU/L]		21 (15 - 28)
GGT [IU/L]		17.5 (12 - 27)
Glucosa [mg/dL]		92 (88 - 99)
Insulina [IU/mL]		67 (46 - 96)
HOMA-IR		1.66 (1.09 - 2.34)
Abreviaciones: Rango intercuartil (RI), Índice de masa corporal (IMC), Aspartato aminotransferasa (AST), Alanina aminotransferasa(ALT), Gamma glutamil transferasa(GGT)		

Descripción de la ingesta habitual de nutrientes

En cuanto a la evaluación y descripción de la dieta de los participantes, se determinó la mediana de la ingesta total de energía y la ingesta habitual de los macronutrientes

Tabla 5. De esta forma, la mediana reportada para el porcentaje de carbohidratos (52.01%) y de proteína (14.30%) se encontró dentro del rango recomendado para adultos 45-65% y 10-35% respectivamente, mientras que la mediana del porcentaje de lípidos (33.59 %) se mostró ligeramente por arriba del porcentaje recomendado 20-35% por la National Academies of Sciences, Engineering and Medicine (NASEM) (Lupton *et al.*, 2002). Por otro lado, la mediana del consumo de la FD total fue de 22.77 g/día (RI: 18.07-28.89) siendo las frutas, las verduras, las leguminosas y los cereales las principales fuentes de FD en nuestra población (datos no mostrados). Así mismo, la mediana del consumo de fibra soluble e insoluble fue de 6.89 g/día (RI: 5.23-9.69) y 12.69 g/día (RI: 9.82-15.38). Llama la atención que solamente el 33.33% de los adultos participantes cumplieron con la ingesta adecuada; de los cuales ninguno era hombre. Al comparar la ingesta habitual de nutrientes entre sexos, no se encontraron diferencias significativas (Apéndice 2: **Tabla 2**).

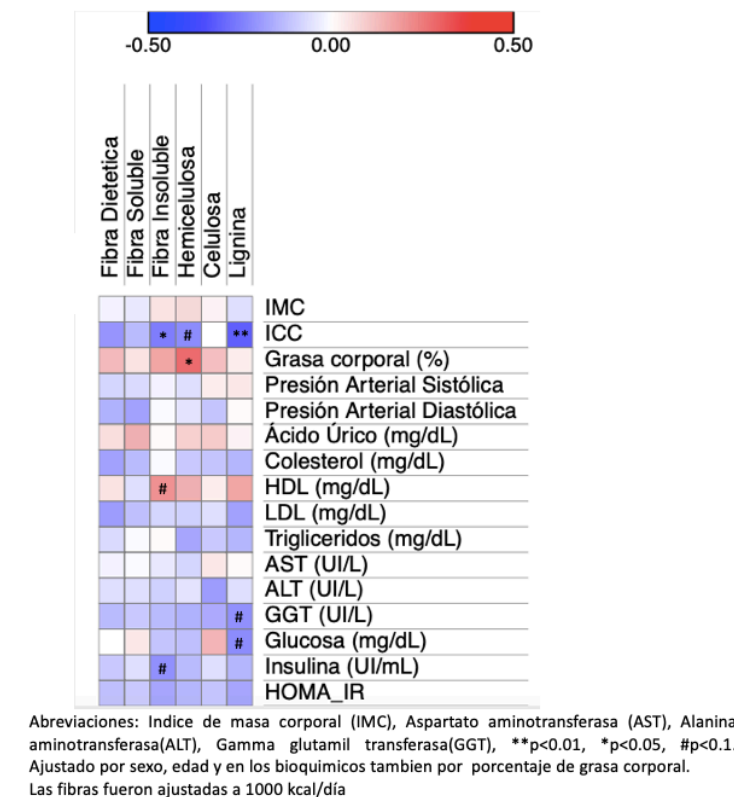
Tabla 5. Ingesta habitual de nutrientes en la muestra de estudio (n = 75)

	Mediana (RI)
Ingesta total de energía (kcal/día)	2085.78 (1583.04 - 2427.43)
Carbohidratos (%)	52.01 (46.87 - 55.95)
Proteínas (%)	14.30 (13.30 - 16.34)
Grasas (%)	33.59 (29.36 - 38.15)
Colesterol dietario (mg/1000 kcal/día)	130.67 (98.52 - 159.82)
Fibra	
Fibra dietaria total (g/1000kcal/día)	11.51 (9.25 - 13.86)
Fibra soluble (g/1000kcal/día)	3.68 (2.63 - 4.44)
Fibra insoluble (g/1000kcal/día)	6.07 (4.88 - 7.25)
Hemicelulosa (g/1000kcal/día)	1.91 (1.61 - 2.50)
Celulosa (g/1000kcal/día)	3.62 (2.24 - 5.12)
Lignina (g/1000kcal/día)	0.47 (0.34 - 0.65)
Abreviaciones: Rango intercuartil (RI)	

Relación entre la ingesta de fibra dietaria y los rasgos metabólicos

Las asociaciones entre la ingesta de los diferentes componentes de FD y los rasgos metabólicos se presentan en la **Figura 5**. Aunque, no se observaron correlaciones significativas entre el consumo de FD total y los parámetros metabólicos, la ingesta de fibra insoluble presentó una correlación significativa con un menor índice cintura-cadera ($P = 0.034$), así como una tendencia hacia una menor concentración de insulina y mayor colesterol HDL ($P = 0.082$) y ($P = 0.083$) respectivamente. Al igual que la fibra insoluble, el consumo de lignina mostró una correlación negativa con el índice cintura-cadera ($P = 0.008$), y como tendencia con los niveles séricos de GGT y glucosa. Adicional a las asociaciones descritas, se observó que el consumo de los diferentes tipos de FD correlacionó con mayor porcentaje de grasa corporal. Sin embargo, la correlación alcanzó significancia estadística únicamente para el consumo de hemicelulosa ($P = 0.018$).

Figura 5. Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre el consumo de FD y los parámetros metabólicos en la muestra de estudio (n=75).



Concentración de ácidos grasos de cadena corta

Considerando la influencia de los AGCC sobre el metabolismo, se determinaron las concentraciones de los AGCC en las muestras fecales de los individuos y se evaluó su relación con la ingesta de fibra y los parámetros metabólicos. Concretamente, las mediciones de AGCC se realizaron en una subpoblación (n = 47) de la muestra original **Tabla 6**, siendo acetato 44.05% (RI:41.22-47.38) el de mayor concentración seguido por propionato 34.00 % (RI: 31.48-37.30) y butirato 21.85% (RI: 20.53-24.64) respectivamente. Aunado a lo anterior, al comparar la concentración y proporción de AGCC en las muestras fecales entre sexos, no se observaron diferencias significativas (Apéndice 2: **Tabla 3**). Sin embargo, al comparar las concentraciones entre los individuos con bajo peso y normopeso vs los individuos con sobrepeso u obesidad se

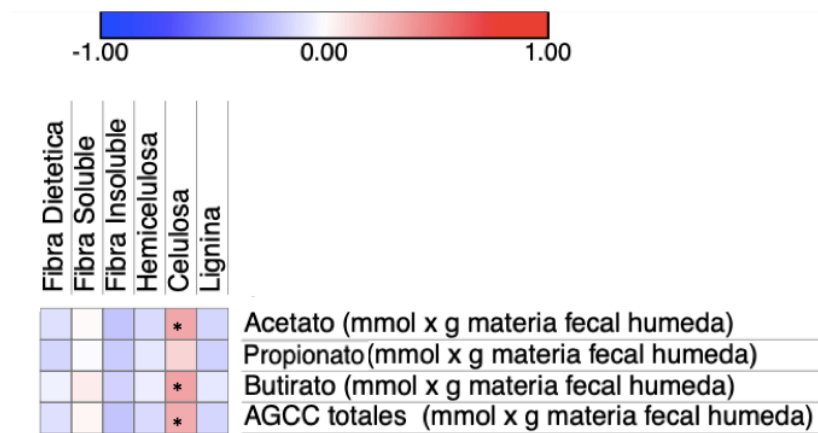
observó que los de este último grupo tendían a una mayor concentración fecal de propionato y butirato (Apéndice 2: **Tabla 4**).

Por otro parte, al realizar las correlaciones parciales entre el consumo de los distintos tipos de fibra y las concentraciones de AGCC **Figura 6**, se observó una correlación positiva entre el consumo de celulosa y la concentración de AGCC, aunque para propionato no alcanzó significancia ($P = 0.28$). Llama la atención que, al realizar las correlaciones parciales entre las concentraciones de AGCC y el fenotipo **Figura 7**, se observó una correlación positiva entre la concentración de los AGCC tanto de manera individual como en conjunto con el porcentaje de grasa corporal. Específicamente, la concentración de acetato y propionato se asoció con mayor adiposidad en los individuos ($P < 0.05$), al igual que la concentración de butirato y los AGCC totales ($P < 0.01$).

Tabla 6. Concentración fecal de los diferentes Ácidos grasos de cadena corta (AGCC)

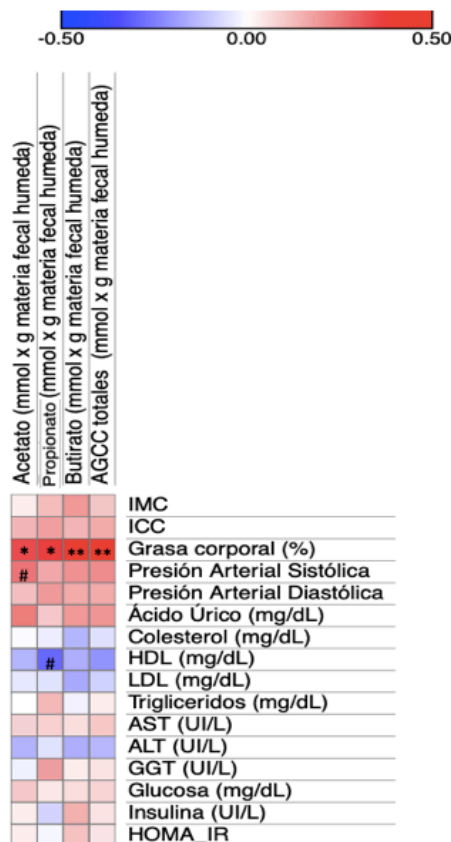
	Submuestra (n = 47)
	Mediana (RI)
Acetato (mmol x g materia fecal humeda)	168.98 (138.23 - 210.15)
Propionato (mmol x g materia fecal humeda)	132.64 (106.94 - 160.08)
Butirato (mmol x g materia fecal humeda)	86.30 (62.21 - 119.23)
AGCC totales (mmol x g materia fecal humeda)	389.00 (310.00 - 499.00)
Abreviaciones: Rango intercuartil (RI) y Ácidos grasos de cadena corta (AGCC).	

Figura 6. Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre el consumo de fibra y la concentración de AGCC en materia fecal. (n=47)



*p<0.05. Las fibras fueron ajustadas a 1000 kcal/día. Ajustado por sexo y edad, n=47.

Figura 7. Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre la concentracion fecal de AGCC y los parámetros metabólicos (n=47).



Abreviaciones: Índice de masa corporal (IMC), Aspartato aminotransferasa (AST), Alanina aminotransferasa(ALT), Gamma glutamil transferasa (GGT), **p<0.01, *p<0.05, #p<0.1. Ajustado por sexo, edad y en los bioquimicos tambien por porcentaje de grasa corporal.

Identificación de los enterotipos

Con la finalidad de evaluar el efecto de la microbiota intestinal en la relación entre el consumo de FD y la salud metabólica, se identificaron los enterotipos microbianos intestinales de la población de estudio. De acuerdo con la metodología descrita con anterioridad, el índice Calinski-Harabasz sugirió un número óptimo de tres enterotipos (Apéndice 2: **Figura 1**). El taxón predominante en cada enterotipo le otorgó el nombre a cada conglomerado; los cuales se encontraban enriquecidos con el género *Bacteroides*, *Prevotella* y miembros de la familia *Ruminococcaceae* respectivamente (Apéndice 2: **Figura 2**). Concretamente, el 36% de nuestra población se clasificó dentro del enterotipo *Bacteroides* y el 36% dentro del enterotipo *Prevotella*, mientras que el 28% pertenecía al enterotipo *Ruminococcaceae* **Figura 8**. Al determinar los indicadores de la α -diversidad en los diferentes enterotipos, se observó que los individuos clasificados dentro del enterotipo *Prevotella* presentaban una menor diversidad según la evaluación del índice de Shannon, en comparación con los individuos de los otros dos enterotipos ($P < 0.05$; **Figura 9**).

Figura 8. Análisis de coordenadas principales para la identificación de enterotipos en la muestra de estudio (n=75)

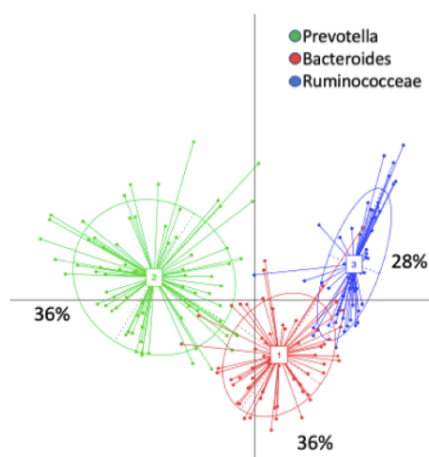
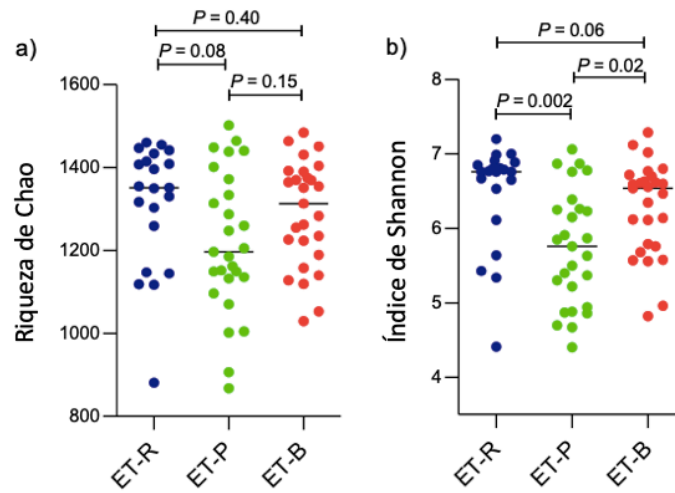


Figura 9. Estimaciones de la diversidad alfa en los enterotipos.



Estimaciones de la diversidad alfa en los enterotipos. a) Estimación de la riqueza de Chao b) Índice de Shannon. ET-R: Enterotipo Ruminococceae n = 21; ET-P: Enterotipo Prevotella n = 27, ET-B: Enterotipo Bacteroides n = 27.

Descripción de la muestra de estudio en cada enterotipo

Una vez efectuada la estratificación por enterotipos, se realizaron análisis descriptivos para caracterizar a la población dentro de cada enterotipo **Tabla 7**. De esta forma, no se observaron diferencias significativas en las variables antropométricas, clínicas o bioquímicas entre los tres enterotipos, a excepción de los niveles de ácido úrico sérico ($P = 0.004$). A pesar de lo anterior, en los sujetos del enterotipo Prevotella se distinguió un mayor porcentaje de grasa corporal y circunferencia de cadera, sin embargo, la diferencia sólo alcanzó significancia estadística frente a los sujetos del enterotipo Bacteroides ($P = 0.040$) y ($P = 0.022$) respectivamente. Finalmente, se mostró que los individuos del enterotipo Bacteroides tendían a una mayor concentración de la gamma glutamil transferasa (GGT), misma que alcanzó significancia sólo entre los enterotipos Bacteroides y Ruminococcaceae.

Tabla 7. Resultados antropométricos, clínicos y bioquímicos por enterotipo.

	ET-B (n = 27)	ET-P (n = 27)	ET-R (n = 21)	Valor P ^b	P P-R ^c	P P-B ^c	P R-B ^c
Sexo n (%)							
Masculino	5 (18.52)	6 (22.22)	2 (9.52)	0.500 ^a			
Femenino	22 (81.48)	21 (77.78)	19 (90.48)				
Estado Nutricio	n (%)	n (%)	n (%)				
Bajo peso	1 (3.70)	0 (0.00)	0 (0.00)	0.256 ^a			
Normopeso	8 (29.63)	5 (18.52)	6 (28.57)				
Sobrepeso	14 (51.85)	10 (37.04)	11 (52.38)				
Obesidad	4 (14.81)	12(44.44)	4 (19.05)				
Síndrome Metabólico	8 (29.63)	11 (40.74)	5 (23.81)	0.374 ^a			
Resistencia a la insulina	7 (25.93)	7 (25.93)	1 (4.76)	0.112 ^a			
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	Mediana (RI)				
Edad	40 (35 - 43)	38 (32 - 41)	39 (35 - 41.5)	0.296	0.435	0.129	0.441
Datos Antropométricos							
Peso [Kg]	68.7 (65.6 - 75.7)	77.9 (64.1 - 92.5)	68.6 (62.9 - 72.5)	0.106	0.063	0.098	0.486
Talla [cm]	160 (154.5 - 169.5)	159 (157 - 166)	159.5 (155 - 162.95)	0.416	0.284	0.842	0.216
Circunferencia de cintura [cm]	85.1 (83 - 95)	91 (85 - 100)	87 (77 - 95.75)	0.304	0.228	0.158	0.843
Circunferencia de cadera [cm]	103 (96 - 106)	109 (101 - 114)	103.5 (97 - 110.75)	0.065	0.216	*0.022	0.308
Índice cintura/cadera	0.85 (0.82 - 0.90)	0.85 (0.80 - 0.92)	0.82 (0.79 - 0.89)	0.544	0.480	0.822	0.244
IMC [kg/m ²]	26.64 (24.04 - 29.37)	28.95 (26.73 - 32.54)	27.12 (24.8 - 29.52)	0.155	0.161	0.068	0.779
Composición Corporal							
Masa libre de grasa (%)	65 (60 - 71.4)	61.1 (55.88 - 65.53)	62.9 (56.1 - 70.4)	0.342	0.661	0.124	0.224
Grasa corporal (%)	35 (28.6 - 37)	38.5 (33 - 42.53)	35.3 (29 - 43.45)	0.126	0.270	*0.040	0.480
Datos Clínicos							
Presión Arterial Sistólica [mmHg]	113 (93.5 - 118)	114 (101.25 - 126)	116 (103 - 122)	0.574	0.357	0.901	0.355
Presión Arterial Diastólica [mmHg]	76 (61 - 81)	71 (67.75 - 78)	73 (70 - 80)	0.641	0.991	0.341	0.532
Datos Bioquímicos							
Creatinina [mg/dL]	0.69 (0.60 - 0.79)	0.64 (0.57 - 0.81)	0.66 (0.58 - 0.71)	0.545	0.763	0.539	0.236
Acido Úrico [mg/dL]	4.9 (4.4 - 5.5)	5.3 (4.4 - 6.2)	4.4 (3.35 - 4.85)	*0.004	*0.002	0.416	*0.008
Colesterol total [mg/dL]	196 (170 - 228)	183 (163 - 198)	192 (162.5 - 215.5)	0.185	0.344	0.063	0.499
Colesterol HDL [mg/dL]	50 (42 - 58)	43 (35 - 54)	49 (45 - 55)	0.121	0.121	0.057	0.771
Colesterol LDL [mg/dL]	123.6 (100.2 - 150.8)	105.8 (85.6 - 127)	111.2 (96.1 - 138.9)	0.130	0.149	0.063	0.533
Triglicéridos [mg/dL]	115 (83 - 177)	120 (103 - 205)	103 (85 - 162)	0.325	0.121	0.416	0.547
AST [IU/L]	23.5 (20 - 33.75)	20 (19 - 24)	22 (17.5 - 27)	0.249	0.748	0.116	0.163
ALT [IU/L]	25 (18 - 28)	19 (15 - 27)	18 (13 - 31.5)	0.228	0.411	0.166	0.210
GGT [IU/L]	21 (14.5 - 37.5)	16 (12 - 31.25)	15 (10 - 19.5)	0.057	0.309	0.163	*0.017
Glucosa [mg/dL]	93 (87 - 100)	92 (88 - 101)	91 (88 - 96)	0.480	0.240	0.716	0.388
Insulina [IU/mL]	57 (44 - 96)	69 (44 - 106)	69 (48.5 - 97)	0.598	0.493	0.368	0.610
HOMA-IR	1.55 (1 - 2.70)	1.72 (1.19 - 2.71)	1.58 (1.16 - 2.12)	0.753	0.521	0.557	0.670

Abreviaciones: Rango intercuartil (RI), Índice de masa corporal (IMC), Aspartato aminotransferasa (AST), Alanina aminotransferasa (ALT), Gamma glutamilo transferasa (GGT), Enterotipo Ruminococceae (ET-R), Enterotipo Prevotella (ET-P), Enterotipo Bacteroides (ET-B). Existe diferencia significativa (*) cuando p < 0.05. ^a Chi-cuadrada entre enterotipos; ^b Kruskal-Wallis entre ET-B, ET-P and ET-R; ^c U Mann-Whitney

Descripción de la ingesta habitual de nutrientes en cada enterotipo

En vista de que cada uno de los enterotipos ha sido asociado con diferentes tipos de dietas habituales y vinculados a diferentes condiciones de salud, se comparó la ingesta habitual de los diferentes nutrientes. De acuerdo con lo reportado en la **Tabla 8**, no se observaron diferencias significativas en la ingesta de los diferentes nutrientes ni en las principales fuentes de FD entre los enterotipos. Además, se determinó que 9 adultos del Enterotipo Bacteroides (33%), 10 adultos del Enterotipo Prevotella

(37.04%) y 6 adultos del Enterotipo Ruminococcaceae (28.57%) cumplieron con la ingesta adecuada de fibra; por lo que tampoco se observó diferencia significativa ($P = 0.827$).

Tabla 8. Ingesta habitual de nutrientes por enterotipo.

	ET-B (n = 27)	ET-P (n = 27)	ET-R (n = 21)	Valor P ^b	P P-R ^c	P P-B ^c	P R-B ^c
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	Mediana (RI)				
Ingesta total de energía (kcal/día)	2085.78 (1581.05 - 2404.53)	2223.51 (1602.68 - 2579.91)	1772.75 (1575.70 - 2212.97)	0.386	0.209	0.517	0.334
Carbohidratos (%)	52.01 (42.67 - 55.96)	51.87 (46.63 - 58.47)	52.29 (47.74 - 56.22)	0.562	0.992	0.392	0.324
Proteínas (%)	14.31 (13.66 - 17.26)	14.04 (12.98 - 15.63)	15.46 (12.81 - 16.12)	0.572	0.486	0.355	0.554
Grasas (%)	33.59 (29.26 - 39.51)	33.61 (30.30 - 38.15)	33.34 (29.50 - 37.07)	0.763	0.795	0.672	0.448
Colesterol dietario (mg/1000 kcal/día)	137.19 (93.33 - 154.21)	133.65 (103.94 - 171.75)	125.89 (100.44 - 157.38)	0.764	0.625	0.473	0.893
Fibra							
Fibra dietaria total (g/1000kcal/día)	11.65 (9.44 - 13.51)	11.37 (8.40 - 14.18)	11.38 (9.52 - 14.54)	0.862	0.621	0.659	0.999
Fibra soluble (g/1000kcal/día)	3.75 (2.66 - 4.42)	3.66 (2.78 - 4.83)	3.46 (2.57 - 4.69)	0.887	0.576	0.856	0.846
Fibra insoluble (g/1000kcal/día)	6.46 (5.31 - 7.25)	5.81 (4.29 - 7.90)	6.29 (5.64 - 7.24)	0.576	0.414	0.337	0.983
Hemicelulosa (g/1000kcal/día)	1.92 (1.63 - 2.34)	2.01 (1.31 - 2.76)	1.79 (1.79 - 2.14)	0.476	0.366	0.938	0.212
Celulosa (g/1000kcal/día)	2.94 (2.02 - 4.69)	3.82 (2.40 - 6.59)	2.79 (2.21 - 4.53)	0.216	0.132	0.139	0.897
Lignina (g/1000kcal/día)	0.47 (0.34 - 0.79)	0.40 (0.28 - 0.63)	0.51 (0.38 - 0.71)	0.48	0.263	0.373	0.715

Abreviaciones: Rango intercuartil (RI), Enterotipo Ruminococcaceae (ET-R), Enterotipo Prevotella (ET-P), Enterotipo Bacteroides (ET-B). Existe diferencia significativa (*) cuando $p < 0.05$. ^b Kruskal-Wallis entre ET-B, ET-P and ET-R; ^c U Mann-Whitney

Relación entre la ingesta de fibra dietaria y los rasgos metabólicos en cada enterotipo

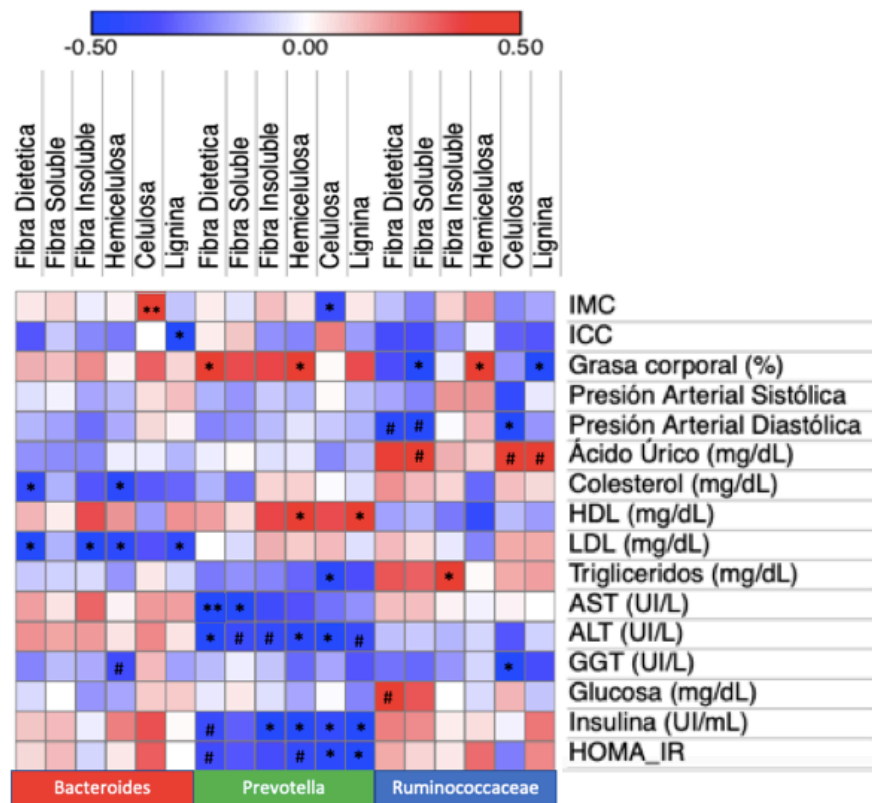
Para verificar si la pertenencia a los diferentes enterotipos podían influir en la asociación entre el consumo de FD y el fenotipo metabólico, se realizaron correlaciones parciales de Spearman entre el consumo de los diferentes tipos de FD y los rasgos metabólicos, en cada uno de los enterotipos identificados **Figura 10**. Consistentemente con lo observado en toda la población, en los individuos del enterotipo Prevotella la ingesta total de FD ($P = 0.048$) y de hemicelulosa ($P = 0.041$) correlacionó con un mayor porcentaje de grasa corporal. Así mismo, el consumo de celulosa correlacionó negativamente con el IMC de estos individuos ($P = 0.048$). Además, pudimos determinar que los individuos del enterotipo Prevotella eran los que parecían determinar en toda la población la correlación negativa, aunque no significativa, entre los diferentes tipos de FD y los marcadores de resistencia a la

insulina; ya que en los individuos de los otros enterotipos se observan en su mayoría en dirección opuesta **Figura 10**. Particularmente, hay que resaltar la correlación negativa significativa entre la ingesta de hemicelulosa y los niveles de insulina ($P = 0.017$), al igual que la tendencia observada con el HOMA-IR ($P = 0.05$). Además de lo ya mencionado, la ingesta de hemicelulosa y lignina correlacionó de manera positiva con el colesterol HDL y negativamente con los niveles séricos de ALT, mientras que la ingesta de celulosa correlacionó negativamente con los niveles séricos de ALT, triglicéridos y con HOMA-IR ($P = 0.016$), ($P = 0.030$) y ($P = 0.037$) respectivamente. Por otro lado, los individuos identificados con el enterotipo Bacteroides mostraron una correlación positiva entre la ingesta de celulosa y el IMC ($P = 0.008$), mientras que la ingesta de lignina correlacionó negativamente con el índice cintura-cadera ($P = 0.012$). En cuanto a los datos bioquímicos, después de ajustar por adiposidad, la ingesta de los diferentes componentes de la FD con excepción de fibra soluble y hemicelulosa, presentaron una correlación negativa con los niveles de colesterol LDL (**Figura 10**). De igual forma, el consumo de la FD total y de hemicelulosa correlacionó negativamente con los niveles de colesterol total ($P = 0.045$) y ($P = 0.031$) respectivamente.

Finalmente, y al igual que lo observado en la población total y de manera particular en los individuos del enterotipo Prevotella, los individuos dentro del enterotipo Ruminococcaceae presentaron una correlación positiva entre el consumo de hemicelulosa y el porcentaje de grasa corporal ($P = 0.037$), mientras que la fibra soluble y la lignina correlacionaron negativamente ($P = 0.042$, $P = 0.024$ respectivamente). Adicionalmente, después de ajustar por porcentaje de grasa corporal, la ingesta de celulosa correlacionó negativamente con la presión arterial diastólica y los niveles de gamma-glutamil transferasa (**Figura 10**); mientras que la

ingesta de fibra insoluble correlacionó positivamente con los niveles de triglicéridos en sangre (P = 0.031).

Figura 10. Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre el consumo de FD y los parámetros metabólicos por enterotipo.



Abreviaciones: Índice de masa corporal (IMC), Aspartato aminotransferasa (AST), Alanina aminotransferasa (ALT), Gamma glutamil transferasa (GGT), **p<0.01, *p<0.05, #p<0.1. Las fibras fueron ajustadas a 1000 kcal/día. Ajustado por sexo, edad y en los bioquímicos también por porcentaje de grasa corporal. Enterotipo Ruminococcaceae n=21; Enterotipo Prevotella n=27; Enterotipo Bacteroides n=27.

Concentración de ácidos grasos de cadena corta en cada enterotipo

Como se mencionó con anterioridad, los AGCC son metabolitos bacterianos de carbohidratos no digeribles que pueden influir en el metabolismo del hospedero por medio de diferentes mecanismos. No obstante, los diferentes enterotipos pueden a su vez estar influyendo sobre la producción de los AGCC. Por ello, con la finalidad de caracterizar la capacidad de extracción de energía y formación de AGCC, se

realizaron comparaciones entre las concentraciones de AGCC en cada enterotipo. Al comparar las concentraciones de los AGCC totales entre los tres enterotipos, no se observaron diferencias significativas, sin embargo, los individuos del enterotipo *Prevotella* mostraron una tendencia hacia una mayor concentración de AGCC totales en comparación con los individuos del enterotipo *Bacteroides* ($P = 0.050$). Llama la atención que al comparar las concentraciones de los diferentes AGCC, la concentración de propionato en los individuos del enterotipo *Prevotella* fue significativamente mayor ($P = 0.035$) en comparación con los otros dos enterotipos **Tabla 9**. Así mismo, el enterotipo *Prevotella* presentó una concentración de acetato significativamente mayor en comparación con la mediana obtenida para el enterotipo *Bacteroides* ($P = 0.035$).

Tabla 9. Concentración fecal de los diferentes Ácidos grasos de cadena corta (AGCC) por enterotipo

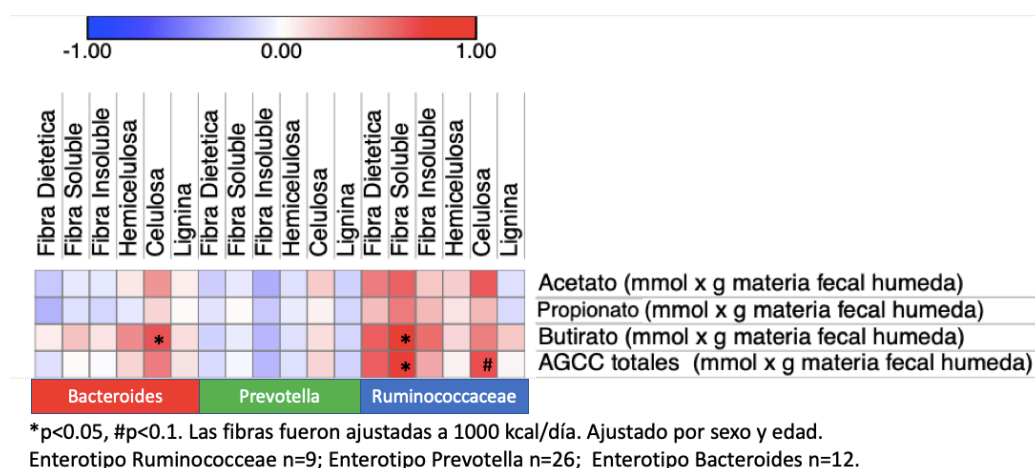
	ET-B (n = 12)	ET-P (n = 26)	ET-R (n = 9)	Valor P ^b	P P-R ^c	P P-B ^c	P R-B ^c
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	Mediana (RI)				
Acetato (mmol x g materia fecal humeda)	140.22 (101.41 - 186.92)	180.84 (152.59 - 231.47)	192.83 (133.73-249.01)	0.101	0.763	*0.035	0.155
Propionato (mmol x g materia fecal humeda)	114.07 (75.75 - 139.13)	142.95 (114.29 - 189.59)	117.12 (83.98 - 144.10)	*0.035	*0.054	*0.028	1,000
Butirato (mmol x g materia fecal humeda)	67.22 (39.12 - 114.85)	92.12 (62.84 - 126.31)	84.60 (68.29 - 110.67)	0.421	0.624	0.209	0.434
AGCC totales (mmol x g materia fecal humeda)	319.00 (236.25 - 418.25)	424.50 (317.25 - 509.25)	350.00 (306.50 - 514.50)	0.145	0.546	0.05	0.32

Abreviaciones: Rango intercuartil (RI), Ácidos grasos de cadena corta (AGCC), Enterotipo Ruminococceae (ET-R), Enterotipo *Prevotella* (ET-P), Enterotipo *Bacteroides* (ET-B). Existe diferencia significativa (*) cuando $p < 0.05$. ^b Kruskal-Wallis entre ET-B, ET-P and ET-R; ^c U Mann-Whitney

Para verificar la relación entre la ingesta de los diferentes componentes de la FD y la producción de AGCC en cada enterotipo, se realizaron correlaciones parciales de Spearman **Figura 11**. Principalmente, observamos que independientemente del enterotipo, el consumo de celulosa correlacionó positivamente con los diferentes AGCC, sin embargo, únicamente se alcanzó significancia estadística con la concentración de butirato en el enterotipo *Bacteroides* ($P = 0.043$) y una tendencia con

la concentración de AGCC totales en el enterotipo Ruminococcaceae ($P = 0.095$). Adicionalmente, en este último enterotipo, se observó una asociación positiva entre el consumo de los diferentes tipos de FD y la concentración de los AGCC, alcanzando significancia estadística solamente entre la fibra soluble y la concentración de butirato y AGCC totales ($P = 0.033$) y ($P = 0.049$) respectivamente. Cabe mencionar, que no se observaron correlaciones significativas entre la ingesta de los diferentes componentes de la FD y los AGCC en los individuos clasificados con el enterotipo Prevotella.

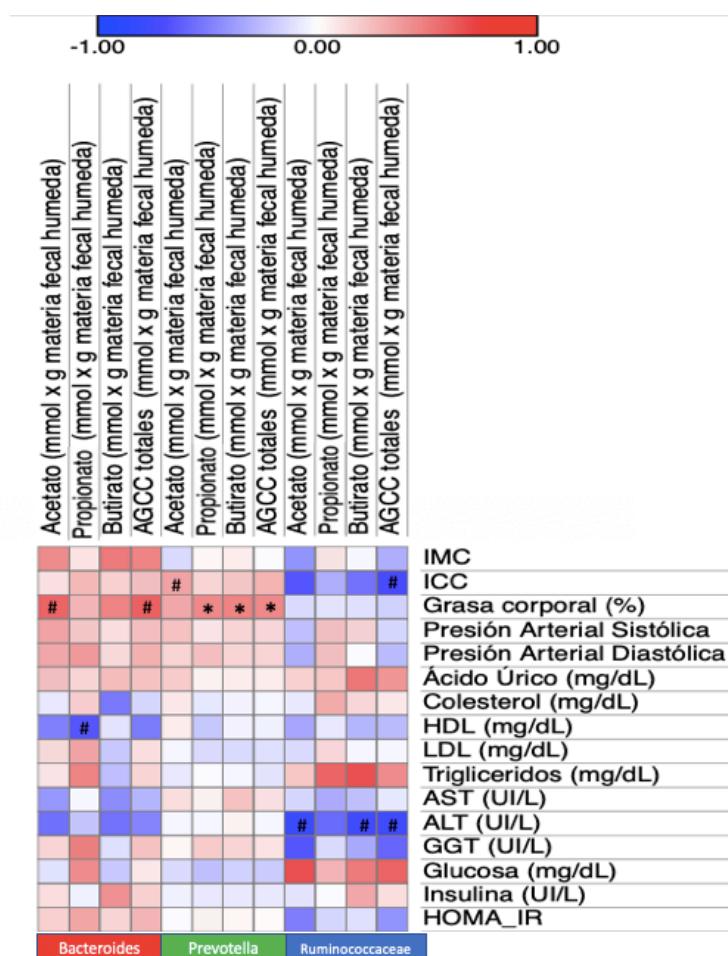
Figura 11. Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre el consumo de FD y las concentraciones fecales de AGCC por enterotipo



Al realizar las correlaciones entre las concentraciones de AGCC y los parámetros metabólicos en cada enterotipo **Figura 12**, pudimos observar que la concentración total de AGCC correlacionó de manera positiva con el porcentaje de grasa en los individuos clasificados dentro de los enterotipos Bacteroides y Prevotella. Particularmente, solo se alcanzó significancia estadística entre la concentración de AGCC totales y el porcentaje de grasa corporal ($P = 0.03$) en este último enterotipo. Sin embargo, la concentración de AGCC totales mostró una tendencia positiva con el

porcentaje de grasa corporal ($P = 0.069$) en los individuos del enterotipo Bacteroides. Lo anterior se distingue de los individuos clasificados con el enterotipo Ruminococcaceae donde, a pesar de no ser significativa, se observó una correlación negativa entre los AGCC y el porcentaje de grasa corporal; así como una tendencia hacia un menor índice cintura-cadera en presencia de una mayor concentración de AGCC totales ($P = 0.066$). Fuera de los datos antropométricos, no se encontraron asociaciones significativas entre las concentraciones fecales de AGCC y los parámetros clínicos o bioquímicos en los enterotipos identificados.

Figura 12. Mapa de calor de las correlaciones parciales de spearman entre las concentraciones fecla de AGCC y los parámetros metabólicos por enterotipo



Abreviaciones: Índice de masa corporal (IMC), Aspartato aminotransferasa (AST), Alanina aminotransferasa(ALT), Gamma glutamil transferasa (GGT), * $p < 0.05$, # $p < 0.1$. Ajustado por sexo, edad y en los bioquímicos también por porcentaje de grasa corporal. Enterotipo Ruminococcaceae n=9; Enterotipo Prevotella n=26; Enterotipo Bacteroides n=12.

Discusión

El propósito de este trabajo consistió en evaluar la influencia de los enterotipos, en la relación entre la ingesta de fibra dietaria y el perfil metabólico de adultos mexicanos. Por ello, con la finalidad de observar la influencia de los perfiles microbianos intestinales, los adultos participantes fueron estratificados según los enterotipos identificados **Figura 8**. Curiosamente, observamos tanto asociaciones independientes del enterotipo **Figura 5**, como asociaciones diferenciales entre el consumo de FD y los rasgos metabólicos en los distintos enterotipos **Figura 10**. Principalmente, en este estudio mostramos que a pesar de los niveles de adiposidad e incluso con baja ingesta de FD, los individuos del enterotipo Prevotella presentan una correlación inversa entre el consumo de FD y los marcadores de resistencia a la insulina; así como con los niveles séricos de ALT y AST. Cabe resaltar, que en los miembros de los otros enterotipos, estas asociaciones se observaron en su mayoría en la dirección opuesta, aunque no fueron significativas.

En primer lugar y con la finalidad de determinar la asociación entre los componentes de la fibra dietaria y los parámetros metabólicos, observamos que solamente un tercio de los adultos participantes cumplieron con la ingesta adecuada de FD **Tabla 5**. Esto es consistente con la tendencia mundial en donde a pesar de las recomendaciones, la ingesta de FD en adultos sigue siendo baja, normalmente inferior a 20 g al día (Gill *et al.*,2020). Llama la atención que, a pesar de que diferentes estudios han vinculado a los enterotipos con diferentes tipos de dietas, el consumo de FD no fue diferente entre los grupos manteniendo el porcentaje de adultos que cumplían con la ingesta adecuada de FD alrededor del 30% en cada enterotipo **Tabla 8**. La diferencia entre el presente estudio y los reportes previos puede estar relacionada con que la mayoría de los estudios han comparado muestras de diferentes regiones y preferencias

dietarias, en las que también podrían influir otros factores ambientales o genéticos (Wu *et al.*, 2011; Christensen *et al.*, 2018; Precup y Vodnar, 2019); lo cual difiere con las características de nuestra muestra de estudio. Además, aunque en menor cantidad, también existen reportes donde el consumo de macronutrientes no muestra diferencia entre enterotipos. Esto puede estar atribuido a patrones dietarios similares y a que la población de estudio procede de la misma región, consistente con lo observado en el presente estudio (Lim *et al.*, 2014).

A pesar de no observar diferencias en el consumo de FD entre los enterotipos y que solamente una tercera parte de nuestra población cumplía con la ingesta adecuada, se observaron correlaciones entre el consumo de FD y los parámetros metabólicos. Lo anterior coincide con estudios previos que muestran que una ingesta de al menos 7 g de FD al día puede reducir significativamente el riesgo de enfermedades cardiovasculares, cáncer colorrectal y diabetes (Gill *et al.*, 2020). Particularmente, en nuestro estudio se observó una asociación negativa entre el consumo de fibra dietética insoluble, y lignina con el índice cintura cadera **Figura 5**. El índice cintura cadera es una relación que evalúa la distribución de la grasa corporal; por lo que puede sugerir la presencia de obesidad ginoide (periférica) u obesidad androide (abdominal). Esta última, se ha asociado con mayor grasa visceral lo que representa mayor riesgo de presentar enfermedades cardiovasculares, hipertensión, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2 (Hernández *et al.*, 2018). En comparación con la adiposidad periférica, la grasa visceral es más sensible a los estímulos lipolíticos, y produce más citoquinas proinflamatorias, lo que ejerce un mayor riesgo de desarrollar anomalías aterotrombóticas e inflamatorias asociadas al síndrome metabólico. También se ha comprobado que el tejido adiposo visceral tiene mayor contacto con los órganos vitales, afectando su funcionamiento (Fu *et al.*, 2014; Hernández *et al.*, 2018). Por ello,

la correlación observada en nuestros individuos podría sugerir un efecto favorable del consumo de FD, sobre la distribución de grasa corporal misma que es congruente con otros estudios a gran escala (Lairon et al., 2005).

No obstante lo anterior, nuestra población presentó una asociación positiva entre la ingesta de los diferentes tipos de fibra y el porcentaje de grasa corporal, alcanzando significancia solo con la ingesta de hemicelulosa (**Figura 5**). Hay que resaltar, que de acuerdo con lo presentado en las **Figuras 6 y 7**, el consumo de algunos tipos de fibra se asoció con mayor concentración fecal de AGCC y estos a su vez se asociaron con mayor adiposidad. Se ha reportado que los AGCC se producen predominantemente por la fermentación bacteriana de carbohidratos no digeribles, como la FD, siendo acetato, propionato y butirato los principales productos. Estos metabolitos se han visto involucrados en la síntesis de lípidos y glucosa, representando una fuente adicional de energía de hasta el 10% de las calorías totales de los individuos (Sanz y Santacruz 2008; Goffredo *et al.*, 2016; Gill *et al.*, 2020); lo que podría explicar los reportes previos en humanos donde las personas con sobrepeso u obesidad presentan niveles más altos de AGCC en comparación con sus contrapartes delgados; mismo que es consistente con el presente estudio (Apéndice 2: **Tabla 4**) (Goffredo *et al.*, 2016). Llama la atención que al realizar la estratificación por enterotipos, la asociación entre el consumo de los diferentes componentes de la FD y el porcentaje de grasa corporal se mantuvo positiva únicamente en los enterotipos Bacteroides y Prevotella **Figura 10**. De igual manera, la asociación entre los AGCC y el porcentaje de grasa se mantuvo positiva solo en estos dos enterotipos **Figura 12**. De acuerdo con la literatura, y consistente con nuestros resultados todos los enterotipos se han descrito como fermentadores de FD y productores de AGCC (Chen *et al.*, 2017). No obstante, los individuos del enterotipo Ruminococcaceae no presentaron un mayor porcentaje

de grasa ante un mayor consumo de los diferentes tipos de FD, con excepción de la hemicelulosa **Figura 10**. Los AGCC posterior a su absorción intestinal pueden servir como fuente de energía. Sin embargo, algunos estudios han sugerido que la absorción de los AGCC puede variar entre individuos (Goffredo et al., 2016). Por lo que podríamos especular que las correlaciones contrarias observadas en los individuos del enterotipo Ruminococcaceae podrían deberse a una menor absorción de los AGCC producidos; lo cual impiden que estos funcionen como fuente de energía. Aunque también podría estar asociado con otros mecanismos poco investigados, donde interviene la diversidad o la motilidad de los individuos (Menni et al., 2017; Müller et al., 2019; Noh et al., 2021). Cabe señalar que, independientemente de la asociación entre el porcentaje de grasa y los AGCC, en todos los enterotipos, la fuente de FD para la producción de estos metabolitos parece corresponder mayormente con la ingesta de celulosa (**Figura 6 y 11**). Consistente con lo reportado con anterioridad, la celulosa consumida puede ser fermentada por la MI en un rango del 20-80%; lo cual podría explicar la correlación observada entre la ingesta de celulosa y la mayor concentración de AGCC (Mudgil y Barak., 2013; Cuervo et al., 2013).

En cuanto al perfil bioquímico, y tomando en cuenta a toda la población en conjunto, los adultos participantes mostraron una correlación negativa entre los diferentes tipos de FD y los marcadores de resistencia a la insulina (**Figura 5**). A pesar de que las correlaciones no fueron significativas, se observó una tendencia entre la fibra insoluble y la insulina en suero. Al realizar la estratificación por enterotipos, pudimos determinar que los individuos del enterotipo Prevotella eran los que determinaban dichas asociaciones en toda la población, ya que en los individuos de los otros enterotipos estas asociaciones en su mayoría se observan en dirección opuesta. Específicamente y conforme a la hipótesis planteada, en los individuos clasificados dentro del enterotipo

Prevotella el mayor consumo de fibra se relacionó con un mejor perfil metabólico; caracterizado por la asociación negativa entre los los diferentes componentes de la FD y los marcadores de la resistencia a la insulina **Figura 10**. Lo anterior además es consistente con el resultado previamente obtenido en población infantil (Martínez, 2020). Aunque los géneros *Prevotella* y *Bacteroides* son fermentadores de fibra dietética, un estudio *in vitro* demostró que el predominio de *Prevotella* en una muestra fecal humana producía mayores cantidades de AGCC totales a partir de diferentes estructuras de fibras, especialmente propionato, en comparación con la fermentación de la muestra enriquecida con *Bacteroides* (Chen *et al.*, 2017). A pesar de que nuestros resultados no muestran una asociación entre el consumo de FD y la concentración fecal de propionato en el enterotipo Prevotella; la mayor concentración de propionato observada en este enterotipo en comparación con la de los otros enterotipos (**Tabla 9**) es consistente con el estudio *in vitro*. Llama la atención que se ha reportado, que el propionato puede servir como sustrato intestinal para activar un circuito neuronal intestinal y así aumentar la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa. (De Vadder *et al* 2014; Chen *et al.*, 2017; Hjorth *et al.*, 2018; Hjorth *et al.*, 2019). A pesar de lo anterior, al realizar las correlaciones parciales entre los AGCC y los parámetros metabólicos por enterotipo **Figura 12**, no se observaron asociaciones que pudieran sugerir que los AGCC son los responsables del mejor perfil metabólico de los individuos Prevotella en nuestra población de estudio.

Aún con lo anterior, no debemos descartar la producción de AGCC como posible mecanismo; ya que aunque los AGCC fecales se utilizan habitualmente como indicador de la fermentación microbiana, es posible que los AGCC fecales no reflejen con exactitud la fermentación colónica *in vivo*. Lo anterior se debe a que aproximadamente el 95% de los AGCC colónicos se absorben y sólo el 5% restante

se excreta en las heces (Cuervo *et al.*, 2013 ; Müller *et al.*, 2019). Aunado a lo anterior, un estudio reciente reportó que los AGCC circulantes están más directamente relacionados con la salud metabólica que los AGCC fecales (Müller *et al.*, 2019). Por ello, sería interesante medir la concentración de AGCC en suero para evaluar la relación entre estos metabolitos y los marcadores de la resistencia a la insulina; y sugerir si el efecto observado en los individuos Prevotella está mediado por los AGCC, particularmente por el propionato. Es importante señalar que otros mecanismos más allá de la señalización de los AGCC también pueden estar implicados en la asociación entre la ingesta de fibra dietética y los rasgos metabólicos; aunque aún se encuentran siendo estudiados, a continuación se describen otros posibles mecanismos.

- Microbiota intestinal, fibra y motilidad intestinal

El tiempo de tránsito intestinal es un factor importante que tiene una relación bilateral con la microbiota intestinal. Se ha reportado, que el tránsito intestinal regula la disponibilidad de agua y nutrientes, así como la tasa de lavado lumínico; lo cual afecta la composición y la funcionalidad de la microbiota intestinal. En sentido opuesto la microbiota intestinal mediante metabolitos como los lipopolisacáridos, los ácidos biliares secundarios y el metano pueden afectar la motilidad intestinal por vías neuronales y humorales (Müller *et al.*, 2018). De acuerdo con la literatura, la escala Bristol se ha propuesto como un indicador de la tasa de tránsito colónico, ya que clasifica las heces humanas en siete categorías de consistencia, de muy firmes a blandas. Las puntuaciones bajas de la escala Bristol corresponden a las heces firmes y se asocian con un tránsito colónico lento, mientras que las puntuaciones altas corresponden a las heces blandas e indican un tránsito normal o rápido (Vandeputte *et al.*, 2016; Müller *et al.*, 2018). De manera particular, se ha reportado que este indicador presenta diferencias entre los enterotipos. Por un lado, se ha descrito que

los individuos del enterotipo *Prevotella* presentan heces blandas; lo cual es característico de un tiempo de tránsito intestinal menor. Mientras que las heces de los sujetos del enterotipo *Ruminococaceae* y *Bacteroides* son más duras, característico de un tiempo de tránsito intestinal mayor (Vandeputte *et al.*, 2016). Con esto en mente, se ha visto que el tránsito colónico lento provoca un agotamiento de los carbohidratos indigeribles, en vista de que son el sustrato preferido para la fermentación bacteriana; lo cual puede generar que las bacterias pasen a la fermentación de proteínas (Roager *et al.*, 2016). En otras palabras, el tránsito lento puede ir acompañado de un cambio en el metabolismo energético microbiano propiciando la fermentación de proteínas. Esto puede dar lugar a un aumento de los metabolitos potencialmente perjudiciales para la salud metabólica como los ácidos grasos de cadena ramificada, amoníaco y los derivados aromáticos de los aminoácidos (Roager *et al.*, 2016). Especialmente, se ha reportado que la producción de propionato de imidazol, un metabolito del aminoácido esencial histidina está asociada con la resistencia a la insulina y la presencia de diabetes tipo 2. Llama la atención que la producción de dicho metabolito, no está asociado con la ingesta de histidina, sino con las dietas reducidas en FD y altas en grasas saturadas, así como con la presencia de un microbioma alterado (Molinaro *et al.*, 2020). Aunado a esto, reportes previos sugieren que el enterotipo *Prevotella* parece no tener aumentados los niveles séricos de propionato de imidazol en comparación con otros enterotipos como *Bacteroides*; el cual se ha visto asociado con mayores niveles de este metabolito y vinculado con pacientes con diabetes tipo 2 (Hjorth *et al.*, 2019; Molinaro *et al.*, 2020). Lo anterior, podría sugerir una menor producción de metabolitos potencialmente perjudiciales por parte de los individuos *Prevotella*, como el propionato de imidazol, otorgándoles un mejor perfil metabólico.

- Microbiota intestinal y utilización de estructuras relacionadas con la FD

No hay que perder de vista que las asociaciones negativas observadas con los marcadores de resistencia a la insulina, en el enterotipo *Prevotella*, fueron principalmente con los tipos de fibra insoluble y hemicelulosa **Figura 10**. Lo anterior, llama la atención debido a que éstas se describen como menos fermentables, viscosas y con menor capacidad de formación de gel que las fibras solubles (Hernández, 2010; Mudgil, 2017; Christensen et al., 2018); lo que lleva a suponer que mecanismos poco investigados donde influye la MI y su microambiente tienen un papel importante en las asociaciones observadas. En este sentido, diferentes estudios han reportado que el consumo de alimentos ricos en fibras insolubles como los granos integrales y los cereales pueden mejorar la resistencia a la insulina y reducir el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (Weickert & Pfeiffer, 2018). Llama la atención que estos estudios, también han observado beneficios metabólicos en el enterotipo *Prevotella* ante una dieta rica en fibra y granos enteros (Christensen et al., 2019). Lo anterior podría deberse a que los sujetos con predominio de *Prevotella* tienen un mayor potencial de degradación de fibra en comparación con los otros enterotipos (Chen et al., 2017). Particularmente, el enterotipo *Prevotella* se ha vinculado con enzimas de escisión, como hidrolasas, las cuales son aptas para degradar una amplia variedad de polisacáridos vegetales complejos (Payling et al., 2020); mismas que podrían estar liberando o facilitando la utilización de diferentes estructuras que se encuentran interactuando con la FD, como los polifenoles (Gutiérrez et al., 2021). Los polifenoles son compuestos naturales que se encuentran en las plantas y alimentos como las frutas, las verduras, los cereales, el té, el café y el vino. Principalmente, se han visto relacionados con tipos de fibra insolubles y esterificados con los arabinosilanos presentes en la pared celular de los granos (Çelik y Gökmen, 2014). Se ha estimado que solamente entre el 5-10% de los polifenoles consumidos son absorbidos en el

intestino delgado, y el resto puede llegar al intestino grueso junto con la FD y eventualmente ser utilizados por la MI (Çelik y Gökmen, 2014; Cardona *et al.*, 2013). Aunado a lo anterior, los polifenoles se han vinculado con efectos saludables como protección contra los trastornos gastrointestinales, reducción del colesterol sérico, propiedades antidiabéticas, entre otros (Cardona *et al.*, 2013). De manera específica, polifenoles como el ácido ferúlico, principal polifenol presente en los cereales y algunas frutas, se han asociado con un efecto protector del intestino y con la capacidad de mejorar la resistencia a la insulina por medio de interacciones con la MI o aumentando la señalización de la insulina y el transporte de glucosa en las células del músculo esquelético (Paquette *et al.*, 2017). A pesar de que más estudios son necesarios, lo anterior nos lleva a sugerir que, los individuos con enterotipo Prevotella están siendo favorecidos ante el consumo de los diferentes tipos de fibra insoluble gracias al potencial de degradación de su MI; el cual permite la utilización de estructuras asociadas con la FD, como los polifenoles, los cuales brindan un mejor perfil metabólico a los individuos con este enterotipo.

Finalmente, en otro orden de ideas e independiente de la hipótesis planteada, observamos que los individuos del enterotipo Bacteroides presentaron una asociación negativa, entre el consumo de los diferentes tipos de FD y los niveles de colesterol total y LDL, que en los otros dos enterotipos fueron en su mayoría en sentido opuesto

Figura 10. A este respecto y a pesar de que la interacción entre la fibra, los enterotipos y el colesterol en sangre ha sido poco estudiada, podemos sugerir que esta correlación está relacionada con el metabolismo de los ácidos biliares. Los ácidos biliares son moléculas anfipáticas que desempeñan un papel importante para la digestión y la absorción de lípidos, así como para la captación de colesterol y vitaminas liposolubles. Además, actúan como moléculas de señalización en varios procesos metabólicos

y tienen la capacidad de unirse a la FD para ser eliminados del organismo y con ello reducir los niveles de colesterol en sangre. (Long et al., 2017; Sing et al., 2019). Llama la atención, que el metabolismo y con ello la señalización de los ácidos biliares puede estar influida por la MI. Concretamente, se ha relacionado al enterotipo Bacteroides con una mayor abundancia de genes implicados en el metabolismo de los ácidos biliares (Gu et al., 2017); por lo que se podría sugerir que los individuos del enterotipo Bacteroides presentan menores niveles de colesterol total y LDL gracias a los genes implicados en el metabolismo de los ácidos biliares, sin embargo, más estudios son necesarios para establecer el mecanismo de la asociación observada entre el consumo de FD y los niveles de colesterol total y LDL.

Conclusiones

Los resultados del presente estudio mostraron que en toda la población la ingesta de FD está relacionada con un menor índice de cintura cadera, sin embargo, también con un mayor porcentaje de grasa corporal aparentemente impulsado por la producción de AGCC. A nivel de enterotipos, a pesar de los niveles de adiposidad e incluso con baja ingesta de FD, solo los individuos del enterotipo Prevotella presentaron menor resistencia a la insulina y en general un mejor perfil metabólico al consumir más fibra insoluble lo cual parece no estar asociado con una producción diferencial de AGCC. Finalmente, nuestro estudio aporta pruebas de que la estratificación por enterotipos podría ser una estrategia para la nutrición personalizada en adultos de población mexicana.

Perspectivas

De acuerdo con lo reportado en el presente trabajo, se propone como perspectiva la medición de los AGCC en suero con la finalidad de evaluar la relación entre estos metabolitos y los marcadores de la resistencia a la insulina; y eventualmente sugerir si el efecto observado en los individuos Prevotella está mediado por los AGCC, particularmente por el propionato. Adicionalmente, se considera relevante la medición de los ácidos biliares para poder determinar si los niveles reducidos de colesterol total y LDL observados en el enterotipo Bacteroides, están vinculados con el mecanismo de estos metabolitos.

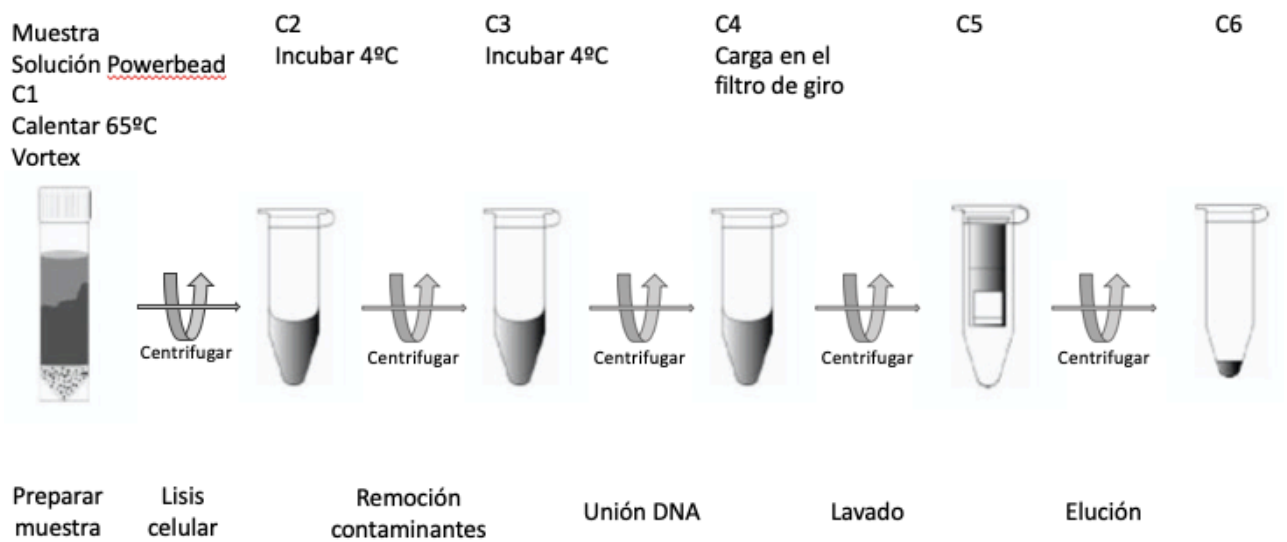
Apéndice

Apéndice 1. Metodología extracción DNA Power Fecal DNA kit

Por medio del Power Fecal DNA kit se realizó la purificación rápida del DNA genómico de las heces de los participantes, con la finalidad de eliminar las sustancias inhibitoras que se encuentran habitualmente en las heces, como los polisacáridos, los compuestos hemo y las sales biliares (QIAGEN, Agosto 2017). El procedimiento experimental se realizó conforme a las instrucciones del fabricante **Figura 1**. Primero, se pesaron 250 mg de materia fecal, muestra que se colocó en un tubo con perlas para la posterior adición de 750 μ L de solución buffer Powerbead. El tubo fue sometido a un ligero vortex y se continuó con la adición de 60 ml de solución C1, detergente aniónico el cual rompe los ácidos grasos y los lípidos de la membrana celular. El tubo se mezcló en el FastPrep-24 y fue incubado a 65°C por 10 minutos para favorecer la lisis celular por efecto mecánico y por el aumento de reacciones químicas. Una vez que se realizó la lisis celular, se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo al cual se le adiciona 250 μ L de la solución C2 y se centrifugó. Después, 600 μ L del sobrenadante fueron transferidos a un nuevo tubo y se le añadió 200 μ L de la solución C3. Cabe señalar que con ayuda de las soluciones C2 y C3 se logró la precipitación de la materia orgánica e inorgánica, para poder separar al DNA. Aunado a lo anterior y con la finalidad de aumentar la pureza de la extracción, se transfirieron 750 μ L del sobrenadante a un nuevo tubo y se le adiciona 1200 ml de solución salina C4, la cual buscaba aumentar la unión del DNA al sílice de la columna separando materia orgánica e inorgánica que pudiera seguir presente. Después de los lavados, se adicionaron 500 μ L de solución C5 de etanol, misma que permitió limpiar el DNA ya que elimina los restos de sal y otros contaminantes que son solubles en esta solución.

Finalmente, el tubo se centrifugó para eliminar los residuos de la solución C5 y se adicionaron 50 μ L de solución C6, que funciona como buffer, para separar el DNA de la columna de sílica.

Figura 1. Metodología para la extracción del DNA de muestras fecales



PowerFecal® DNA Isolation Kit Instruction Manual

Apéndice 2. Tablas y figuras complementarias

Tabla 1. Datos descriptivos para la caracterización de la muestra de estudio, comparación entre hombres y mujeres.

	Mujeres (n = 62)	Hombres (n = 13)	Valor P
Estado Nutricio	n (%)	n (%)	
Bajo peso	1 (1.61)	0	0.804
Normopeso	16 (25.81)	3 (23.08)	
Sobrepeso	30 (48.39)	5 (38.46)	
Obesidad	15 (24.19)	5 (38.46)	
Síndrome Metabólico	19 (30.65)	5 (38.46)	0.455
Resistencia a la insulina	13 (20.97)	2 (15.38)	0.629
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	
Edad	39 (34-42)	38 (33-42)	0.684
Datos Antropométricos			
Peso [Kg]	68.55 (63.52-77.65)	79.8 (72.2-96.15)	*0.001
Talla [cm]	158.80 (154.65-162.35)	169.80 (167-179.25)	*4.99E-7
Circunferencia de cintura [cm]	87.25 (80.75-95)	97 (87-108.25)	*0.010
Circunferencia de cadera [cm]	104 (100-110)	101 (97.5-111)	0.585
Índice cintura/cadera	0.83 (0.79-0.88)	0.93 (0.91-.99)	*1.00E-6
IMC [kg/m ²]	27.85 (24.81-29.85)	27.35 (24.93-31.08)	0.644
Composición Corporal			
Masa libre de grasa (%)	62.30 (55.8-67.05)	68.6 (64-75.2)	*0.006
Grasa corporal (%)	36.5 (32.5-41.85)	31.4 (24.8-36)	*0.017
Datos Clínicos			
Presión Arterial Sistólica [mmHg]	112 (99.75-120.25)	118.5 (113-129.75)	0.111
Presión Arterial Diastólica [mmHg]	72 (64.75-78)	79 (72.75-87)	*0.010
Datos Bioquímicos			
Creatinina [mg/dL]	0.64 (0.56-0.69)	0.84 (0.8-0.94)	*7.13E-7
Acido Úrico [mg/dL]	4.6 (4.08-5.3)	6.1 (5.6-7.1)	*3.50E-5
Colesterol total [mg/dL]	190.5 (163.75-211.5)	198 (176.5-224)	0.278
Colesterol HDL [mg/dL]	49 (39-57)	44 (32.5-51.5)	0.109
Colesterol LDL [mg/dL]	111.9 (91.75-134.85)	127 (88.8-150.5)	0.429
Triglicéridos [mg/dL]	113.5 (87.75-176.25)	133 (108-240.5)	0.060
AST [IU/L]	21 (19-26.5)	27 (21.25-41)	*0.011
ALT [IU/L]	19 (15-26)	37 (25.5-60)	*4.12E-4
GGT [IU/L]	16 (11-22)	32 (20.5-38)	*0.004
Glucosa [mg/dL]	92 (88-99)	95 (20.5-38)	0.484
Insulina [IU/mL]	68.50 (47-99.75)	57 (43.5-85.5)	0.248
HOMA-IR	1.67 (1.12-2.35)	1.55 (0.96-2.31)	0.469

Abreviaciones: Rango intercuartil (RI), Índice de masa corporal (IMC), Aspartato aminotransferasa (AST), Alanina aminotransferasa(ALT), Gamma glutamil transpeptidasa(GGT).

Existe diferencia significativa (*) cuando $p < 0.05$. U Mann-Whitney. En el estado nutricional, síndrome metabólico y resistencia a la insulina se realizó la prueba Chi-cuadrada

Tabla 2. Ingesta habitual de nutrientes en la muestra de estudio, comparación entre hombres y mujeres.

	Mujeres (n = 62)	Hombres (n = 13)	Valor P
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	
Ingesta total de energía (kcal/día)	2069.71 (1590.7-2339.27)	2427.43 (1483.04-3035.89)	0.203
Carbohidratos (%)	52.04 (46.86-54.86)	50.89 (46.60-57.97)	0.78
Proteínas (%)	14.29 (13.45-16.41)	14.31 (12.75-15.49)	0.378
Grasas (%)	33.56 (29.76-37.85)	34.37 (27.87-40.45)	0.967
Colesterol dietario (mg/1000 kcal/día)	129.66 (95.58-160.44)	141.14 (113.97-159.4)	0.417
Fibra			
Fibra dietaria total (g/1000kcal/día)	11.84 (9.53-14.1)	9.48 (7.95-12.83)	0.134
Fibra soluble (g/1000kcal/día)	3.78 (2.65-4.67)	3.22 (2.37-3.78)	0.153
Fibra insoluble (g/1000kcal/día)	6.03 (5.04-7.23)	6.17 (4.37-9.48)	0.771
Hemicelulosa (g/1000kcal/día)	1.83 (1.61-2.33)	2.34 (1.26-3.12)	0.284
Celulosa (g/1000kcal/día)	3.71 (2.23-5.16)	2.93 (2.03-4.46)	0.624
Lignina (g/1000kcal/día)	0.47 (0.36-0.63)	0.352 (0.28-0.82)	0.546

Abreviaciones: Rango intercuartil (RI) Existe diferencia significativa (*) cuando p < 0.05. U Mann-Whitney.

Tabla 3. Concentración de los AGCC en muestras fecales por sexo

	Mujeres (n = 36)	Hombres (n = 11)	Valor P
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	
Acetato (mmol x g materia fecal humeda)	156.16 (138.03 - 205.64)	194.51 (129.03 - 253.62)	0.340
Propionato (mmol x g materia fecal humeda)	118.72 (103.80 - 153.33)	148.91 (121.16 - 238.91)	0.113
Butirato (mmol x g materia fecal humeda)	84.84 (61.80 - 120.18)	100.91 (61.95 - 131.65)	0.340
AGCC totales (mmol x g materia fecal humeda)	366.50 (304.00 - 483.50)	445.00 (312.00 - 640.00)	0.223

Abreviaciones: Rango intercuartil (RI) y Acidos grasos de cadena corta (AGCC). Existe diferencia significativa (*) cuando p < 0.05. U Mann-Whitney.

Tabla 4. Concentración de los AGCC en muestras fecales por estados nutricios

	Bajo peso y Normo peso (n = 20)	Sobre peso y obesidad (n = 55)	Valor P
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	
Acetato (mmol x g materia fecal humeda)	156.23 (120.75 - 210.22)	171.29 (139.43 - 215.44)	0.598
Propionato (mmol x g materia fecal humeda)	109.59 (76.50 - 137.82)	135.06 (111.75 - 182.24)	0.097
Butirato (mmol x g materia fecal humeda)	78.46 (48.07 - 93.91)	92.21 (63.01 - 128.85)	0.097
AGCC totales (mmol x g materia fecal humeda)	335.00 (282.00 - 486.00)	392.00 (313.5 - 518.00)	0.209

Abreviaciones: Rango intercuartil (RI) y Acidos grasos de cadena corta (AGCC). Existe diferencia significativa (*) cuando p < 0.05. U Mann-Whitney.

Figura 1. Índice Calinski-Harabasz para la identificación óptima del número de clusters o enterotipos.

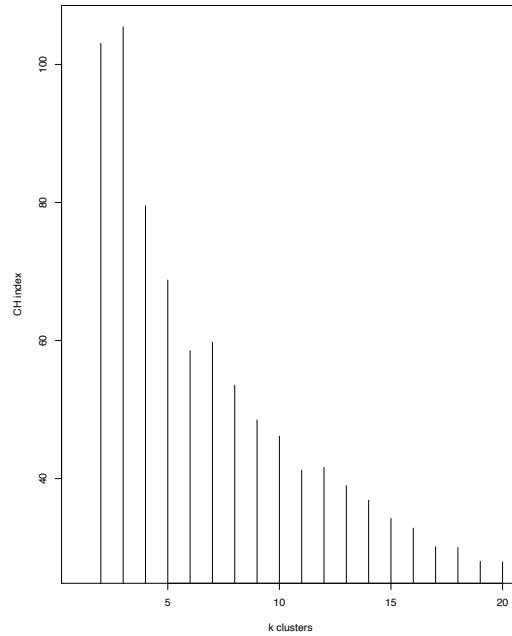
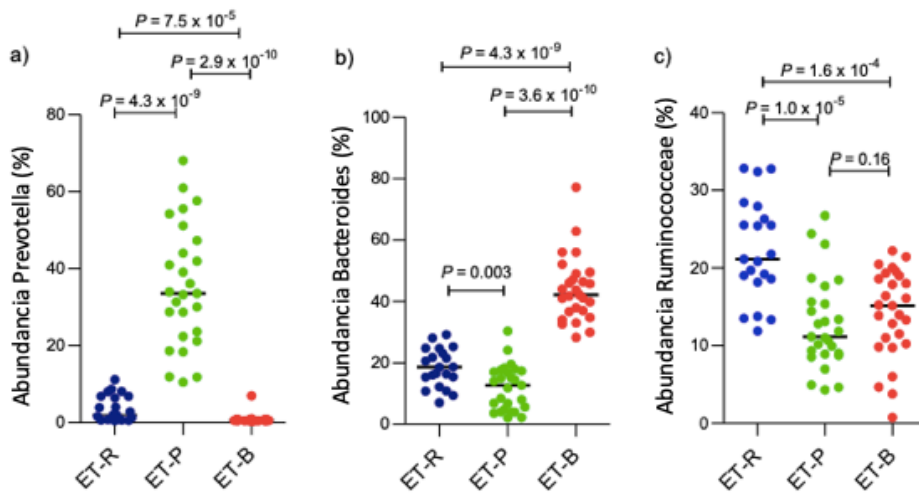


Figura 2. Porcentaje de abundancia relativa de los generos que determinan a los enterotipos



Porcentajes de abundancia relativa de los enterotipos a) Prevotella, b) Bacteroides y c) Ruminococcaceae. ET-R: Enterotipo Ruminococceae n = 21; ET-P: Enterotipo Prevotella n = 27, ET-B: Enterotipo Bacteroides n = 27.

Bibliografía

1. Alarcón, P., González, M., & Castro, É. (2016). The role of gut microbiota in the regulation of the immune response. *Revista Médica de Chile*, 144(7), 910-916.
2. Aleixandre, A., & Miguel, M. (2008). Dietary fiber in the prevention and treatment of metabolic syndrome: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(10), 905-912.
3. Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., ... & Bertalan, M. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), 174-180.
4. Azcarate-Peril, M. A., Arnold, R. R., & Bruno-Bárcena, J. M. (Eds.). (2019). *How Fermented Foods Feed a Healthy Gut Microbiota: A Nutrition Continuum*. Springer.
5. Baghel, R. S., Reddy, C. R. K., & Singh, R. P. (2021). Seaweed-based cellulose: Applications, and future perspectives. *Carbohydrate Polymers*, 118241.
6. Batis, C., Castellanos-Gutiérrez, A., Aburto, T. C., Jiménez-Aguilar, A., Rivera, J. A., & Ramírez-Silva, I. (2020). Self-perception of dietary quality and adherence to food groups dietary recommendations among Mexican adults. *Nutrition Journal*, 19(1), 1-12.
7. Berry, S. E., Valdes, A. M., Drew, D. A., Asnicar, F., Mazidi, M., Wolf, J., ... & Bonnett, C. (2020). Human postprandial responses to food and potential for precision nutrition. *Nature Medicine*, 1-10.
8. Canfora, E. E., Jocken, J. W., & Blaak, E. E. (2015). Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology*, 11(10), 577.

9. Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., ... & Huttley, G. A. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature methods*, 7(5), 335-336.
10. Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., & Queipo-Ortuño, M. I. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(8), 1415-1422.
11. Çelik, E. E., & Gökmen, V. (2014). Investigation of the interaction between soluble antioxidants in green tea and insoluble dietary fiber bound antioxidants. *Food research international*, 63, 266-270.
12. Chamorro, R. A. M., & Mamani, E. C. (2010). Importancia de la fibra dietética, sus propiedades funcionales en la alimentación humana y en la industria alimentaria. *Revista de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1).
13. Chávez-Sifontes, M., & Domine, M. E. (2013). Lignina, estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 4(4), 15-46.
14. Chen, P. (Ed.). (2020). *Gut Microbiota and Pathogenesis of Organ Injury*. Springer Singapore.
15. Chen, T., Long, W., Zhang, C., Liu, S., Zhao, L., & Hamaker, B. R. (2017). Fiber-utilizing capacity varies in Prevotella-versus Bacteroides-dominated gut microbiota. *Scientific Reports*, 7(1), 1-7.
16. Christensen, L., Roager, H. M., Astrup, A., & Hjorth, M. F. (2018). Microbial enterotypes in personalized nutrition and obesity management. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 108(4), 645-651.

17. Christensen, L., Vuholm, S., Roager, H. M., Nielsen, D. S., Krych, L., Kristensen, M., ... & Hjorth, M. F. (2019). Prevotella abundance predicts weight loss success in healthy, overweight adults consuming a whole-grain diet ad libitum: a post hoc analysis of a 6-wk randomized controlled trial. *The Journal of Nutrition*, 149(12), 2174-2181.
18. Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Matallana-González, M. C., & Morales, P. (2019). Dietary fiber sources and human benefits: The case study of cereal and pseudocereals. In *Advances in food and nutrition research* (Vol. 90, pp. 83-134). Academic Press.
19. Colchero, M. A., Caro-Vega, Y., & Kaufer-Horwitz, M. (2014). Socioeconomic status and misperception of body mass index among Mexican adults. *Salud Pública de México*, 56(3), 251-258.
20. Cornier, M. A., Dabelea, D., Hernandez, T. L., Lindstrom, R. C., Steig, A. J., Stob, N. R., ... & Eckel, R. H. (2008). The metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*, 29(7), 777-822.
21. Costea, P. I., Hildebrand, F., Arumugam, M., Bäckhed, F., Blaser, M. J., Bushman, F. D., ... & Huttenhower, C. (2018). Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nature Microbiology*, 3(1), 8-16.
22. Cuervo, A., Salazar, N., Ruas-Madiedo, P., Gueimonde, M., & González, S. (2013). Fiber from a regular diet is directly associated with fecal short-chain fatty acid concentrations in the elderly. *Nutrition Research*, 33(10), 811-816.
23. de la Torre, A. M. (Ed.). (2002). *Técnicas y métodos de investigación en nutrición humana*. Editorial Glosa, SL.

24. De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Goncalves, D., Vinera, J., Zitoun, C., Duchamp, A., ... & Mithieux, G. (2014). Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*, 156(1-2), 84-96.
25. del Rosario Rodicio, M., & del Carmen Mendoza, M. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 22(4), 238-245.
26. Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., & Patil, R. T. (2012). Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 255-266.
27. Dikeman, C. L., & Fahey Jr, G. C. (2006). Viscosity as related to dietary fiber: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(8), 649-663.
28. Dreher, M. L. (2001). Dietary fiber overview. *Food Science and Technology New York-Marcel Dekker-*, 1-16.
29. Du, B., Bian, Z., & Xu, B. (2014). Skin health promotion effects of natural beta-glucan derived from cereals and microorganisms: A review. *Phytotherapy Research*, 28(2), 159-166.
30. Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19), 2460-2461.
31. Escudero Álvarez, E., & González Sánchez, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21, 61-72.
32. Figueroa, L. E. (2019). Geles de pectina con fibra dietaria: aplicación en la elaboración de dulces frutales saludables. *Hospitalaria*, 21, 61-72.
33. Floch, M. H., Ringel, Y., & Walker, W. A. (Eds.). (2016). The microbiota in gastrointestinal pathophysiology: implications for human health, prebiotics, probiotics, and dysbiosis. *Academic Press*.

34. Flores, M., Macias, N., Rivera, M., Lozada, A., Barquera, S., Rivera-Dommarco, J., & Tucker, K. L. (2010). Dietary patterns in Mexican adults are associated with risk of being overweight or obese. *The Journal of Nutrition*, 140(10), 1869-1873.
35. Fu, X., Song, A., Zhou, Y., Ma, X., Jiao, J., Yang, M., & Zhu, S. (2014). Association of regional body fat with metabolic risks in Chinese women. *Public Health Nutrition*, 17(10), 2316-2324.
36. Fuller, S., Beck, E., Salman, H., & Tapsell, L. (2016). New horizons for the study of dietary fiber and health: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(1), 1-12.
37. Galanakis, C. M. (Ed.). (2019). *Dietary Fiber: Properties, Recovery, and Applications*. Academic Press.
38. Gaulke, C. A., & Sharpton, T. J. (2018). The influence of ethnicity and geography on human gut microbiome composition. *Nature Medicine*, 24(10), 1495-1496.
39. Gill, S. K., Rossi, M., Bajka, B., & Whelan, K. (2020). Dietary fibre in gastrointestinal health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 1-16.
40. Goffredo, M., Mass, K., Parks, E. J., Wagner, D. A., McClure, E. A., Graf, J., ... & Santoro, N. (2016). Role of gut microbiota and short chain fatty acids in modulating energy harvest and fat partitioning in youth. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(11), 4367-4376.
41. González-Chávez, A., Simental, L., Elizondo-Argueta, S., Sánchez, J., Gutiérrez Salgado, J., & Guerrero-Romero, F. (2008). Prevalencia del síndrome

metabólico entre adultos mexicanos no diabéticos, usando las definiciones de la OMS, NCEP-ATPIIIa e IDF. *Rev Med Hosp Gen Mex*, 71(1), 11-9.

42. Graf, D., Di Cagno, R., Fåk, F., Flint, H. J., Nyman, M., Saarela, M., & Watzl, B. (2015). Contribution of diet to the composition of the human gut microbiota. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26(1), 26164.
43. Gu, Y., Wang, X., Li, J., Zhang, Y., Zhong, H., Liu, R., ... & Wang, W. (2017). Analyses of gut microbiota and plasma bile acids enable stratification of patients for antidiabetic treatment. *Nature Communications*, 8(1), 1-12.
44. Guarner, F. (2011). Microbiota intestinal y enfermedades inflamatorias del intestino. *Gastroenterología y Hepatología*, 34(3), 147-154.
45. Guillon, F., & Champ, M. (2000). Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Research International*, 33(3-4), 233-245.
46. Gutiérrez-Díaz, I., Salazar, N., Pérez-Jiménez, J., Clara, G., Gueimonde, M., & González, S. (2021). New players in the relationship between diet and microbiota: the role of macromolecular antioxidant polyphenols. *European Journal of Nutrition*, 60(3), 1403-1413.
47. Hamaker, B. R., & Tuncil, Y. E. (2014). A perspective on the complexity of dietary fiber structures and their potential effect on the gut microbiota. *Journal of Molecular Biology*, 426(23), 3838-3850.
48. Haub, M. D., Hubach, K. L., Al-tamimi, E. K., Ornelas, S., & Seib, P. A. (2010). Different types of resistant starch elicit different glucose responses in humans. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2010.

49. Hernández-Ávila, J. E., González-Avilés, L., & Rosales-Mendoza, E. (2003). Manual de usuario. SNUT Sistema de Evaluación de Hábitos Nutricionales y Consumo de Nutrientes. México: Instituto Nacional de Salud Pública.
50. 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.
51. Hernandez, A. G. D. (2010). *Tratado de nutrición/Nutrition Treatise: Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición/Physiological and biochemical basis of nutrition*. Ed. Médica Panamericana.
52. Hjorth, M. F., Blædel, T., Bendtsen, L. Q., Lorenzen, J. K., Holm, J. B., Kiilerich, P., ... & Astrup, A. (2019). Prevotella-to-Bacteroides ratio predicts body weight and fat loss success on 24-week diets varying in macronutrient composition and dietary fiber: results from a post-hoc analysis. *International Journal of Obesity*, 43(1), 149-157.
53. Hjorth, M. F., Christensen, L., Kjølbaek, L., Larsen, L. H., Roager, H. M., Kiilerich, P., ... & Astrup, A. (2020). Pretreatment Prevotella-to-Bacteroides ratio and markers of glucose metabolism as prognostic markers for dietary weight loss maintenance. *European Journal of Clinical Nutrition*, 74(2), 338-347.
54. Hjorth, M. F., Roager, H. M., Larsen, T. M., Poulsen, S. K., Licht, T. R., Bahl, M. I., ... & Astrup, A. (2018). Pre-treatment microbial Prevotella-to-Bacteroides ratio, determines body fat loss success during a 6-month randomized controlled diet intervention. *International Journal of Obesity*, 42(3), 580-583.
55. Icaza-Chávez, M. E. (2013). Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Revista de Gastroenterología de México*, 78(4), 240-248.

56. Ishiguro, E., Haskey, N., & Campbell, K. (2018). Gut Microbiota: Interactive Effects on Nutrition and Health. *Academic Press*.
57. Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., & Reddy, D. N. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 21(29), 8787.
58. Jones, J. M. (2014). CODEX-aligned dietary fiber definitions help to bridge the 'fiber gap'. *Nutrition Journal*, 13(1), 34.
59. Kim, B. R., Shin, J., Guevarra, R. B., Lee, J. H., Kim, D. W., Seol, K. H., ... & Isaacson, R. E. (2017). Deciphering diversity indices for a better understanding of microbial communities. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(12), 2089-2093.
60. Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., & Bäckhed, F. (2016). From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell*, 165(6), 1332-1345.
61. Koren, O., Knights, D., Gonzalez, A., Waldron, L., Segata, N., Knight, R., ... & Ley, R. E. (2013). A guide to enterotypes across the human body: meta-analysis of microbial community structures in human microbiome datasets. *PLoS Comput Biol*, 9(1), e1002863.
62. Lairon D, Arnault N, Bertrais S, Planells R, Clero E, Hercberg S, et al. Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in French adults. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2005;82(6):1185–94.
63. Lattimer, J. M., & Haub, M. D. (2010). Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*, 2(12), 1266-1289.
64. León-Mimila, P., Villamil-Ramírez, H., López-Contreras, B. E., Morán-Ramos, S., Macias-Kauffer, L. R., Acuña-Alonzo, V., ... & Villarreal-Molina, T. (2018).

- Low salivary amylase gene (AMY1) copy number is associated with obesity and gut Prevotella abundance in Mexican children and adults. *Nutrients*, 10(11), 1607.
65. Leschine, S. B. (1995). Cellulose degradation in anaerobic environments. *Annual Review of Microbiology*, 49(1), 399-426.
66. Li, Y. O., & Komarek, A. R. (2017). Dietary fibre basics: Health, nutrition, analysis, and applications. *Food Quality and Safety*, 1(1), 47-59.
67. Lim, M. Y., Rho, M., Song, Y. M., Lee, K., Sung, J., & Ko, G. (2014). Stability of gut enterotypes in Korean monozygotic twins and their association with biomarkers and diet. *Scientific reports*, 4(1), 1-7.
68. Lin, S. Y., & Dence, C. W. (Eds.). (2012). Methods in lignin chemistry. *Springer Science & Business Media*.
69. Lohman, T. G., Roche, A. F. & Martorell, R. (1988). Anthropometric Standardization Reference Manual.
70. Long, S. L., Gahan, C. G., & Joyce, S. A. (2017). Interactions between gut bacteria and bile in health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 56, 54-65.
71. López-Olmedo, N., Carriquiry, A. L., Rodríguez-Ramírez, S., Ramírez-Silva, I., Espinosa-Montero, J., Hernández-Barrera, L., ... & Rivera, J. A. (2016). Usual intake of added sugars and saturated fats is high while dietary fiber is low in the Mexican population. *The Journal of Nutrition*, 146(9), 1856S-1865S.
72. López-Contreras, B. E., Morán-Ramos, S., Villarruel-Vázquez, R., Macías-Kauffer, L., Villamil-Ramírez, H., León-Mimila, P., ... & Canizales-Quinteros, S. (2018). Composition of gut microbiota in obese and normal-weight Mexican

- school-age children and its association with metabolic traits. *Pediatric Obesity*, 13(6), 381-388.
73. Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220-230.
74. Lupton, J. R., Brooks, J. A., Butte, N. F., Caballero, B., Flatt, J. P., & Fried, S. K. (2002). Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. *National Academy Press: Washington, DC, USA*, 5, 589-768.
75. Martínez Medina, J. N. (2020). Influencia de la dieta habitual sobre la microbiota intestinal y su relación con la presencia de complicaciones metabólicas en niños escolares (tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México.
76. McCrory, M. A. (2018). *Dietary Fibers and Human Health*. MDPI.
77. Menni, C., Jackson, M. A., Pallister, T., Steves, C. J., Spector, T. D., & Valdes, A. M. (2017). Gut microbiome diversity and high-fibre intake are related to lower long-term weight gain. *International Journal of Obesity*, 41(7), 1099-1105.
78. Moeller, A. H., & Ochman, H. (2013). Factors that drive variation among gut microbial communities. *Gut Microbes*, 4(5), 403-408.
79. Molinaro, A., Lassen, P. B., Henricsson, M., Wu, H., Adriouch, S., Belda, E., ... & Bäckhed, F. (2020). Imidazole propionate is increased in diabetes and associated with dietary patterns and altered microbial ecology. *Nature Communications*, 11(1), 1-10.
80. Moran-Ramos, S., Ocampo-Medina, E., Gutierrez-Aguilar, R., Macías-Kauffer, L., Villamil-Ramírez, H., López-Contreras, B. E., ... & Canizales-Quinteros, S.

- (2017). An amino acid signature associated with obesity predicts 2-year risk of hypertriglyceridemia in school-age children. *Scientific Reports*, 7(1), 1-9.
81. Mudgil, D. (2017). The interaction between insoluble and soluble fiber. In *Dietary fiber for the prevention of cardiovascular disease*(pp. 35-59). *Academic Press*.
82. Mudgil, D., & Barak, S. (2013). Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 61, 1-6.
83. Müller, M., Canfora, E. E., & Blaak, E. E. (2018). Gastrointestinal transit time, glucose homeostasis and metabolic health: Modulation by dietary fibers. *Nutrients*, 10(3), 275.
84. Noh, H., Jang, H. H., Kim, G., Zouiouich, S., Cho, S. Y., Kim, H. J., ... & Freisling, H. (2021). Taxonomic Composition and Diversity of the Gut Microbiota in Relation to Habitual Dietary Intake in Korean Adults. *Nutrients*, 13(2), 366.
85. Padrón Pereira, C. A. (2019). Microbiota intestinal humana y dieta. *Ciencia y Tecnología* (1390-4051), 12(1).
86. Paquette, M., Larqué, A. S. M., Weisnagel, S. J., Desjardins, Y., Marois, J., Pilon, G., ... & Jacques, H. (2017). Strawberry and cranberry polyphenols improve insulin sensitivity in insulin-resistant, non-diabetic adults: a parallel, double-blind, controlled and randomised clinical trial. *British journal of nutrition*, 117(4), 519-531.
87. Payling, L., Fraser, K., Loveday, S. M., Sims, I., Roy, N., & McNabb, W. (2020). The effects of carbohydrate structure on the composition and functionality of the human gut microbiota. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 233-248.

88. Precup, G., & Vodnar, D. C. (2019). Gut Prevotella as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: a comprehensive literature review. *British Journal of Nutrition*, 122(2), 131-140.
89. QIAGEN. (Agosto 2017). QIAamp[®] PowerFecal[®] DNA Kit Handbook: For the isolation of DNA from stool, gut material and biosolids.
90. Rivera, V. M. R. (2008). Bases de la Alimentación Humana. *Netbiblo*.
91. Roager, H. M., Licht, T. R., Poulsen, S. K., Larsen, T. M., & Bahl, M. I. (2014). Microbial enterotypes, inferred by the prevotella-to-bacteroides ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(3), 1142-1149.
92. Rodriguez, J., Hiel, S., Neyrinck, A. M., Le Roy, T., Pötgens, S. A., Leyrolle, Q., ... & Cnop, M. (2020). Discovery of the gut microbial signature driving the efficacy of prebiotic intervention in obese patients. *Gut*.
93. Rose, D. J., DeMeo, M. T., Keshavarzian, A., & Hamaker, B. R. (2007). Influence of dietary fiber on inflammatory bowel disease and colon cancer: Importance of fermentation pattern. *Nutrition Reviews*, 65(2), 51-62.
94. Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1-17.
95. Sanz, Y., & Santacruz, A. (2008). Evidence on the role of gut microbes in obesity. *Rev Esp Obes*, 6, 256-263.
96. Scheller, H. V., & Ulvskov, P. (2010). Hemicelluloses. *Annual Review of Plant Biology*, 61.
97. Sebastián-Domingo, J. J., & Sánchez-Sánchez, C. (2018). De la flora intestinal al microbioma. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 110(1), 51-56.

98. Singh, J., Metrani, R., Shivanagoudra, S. R., Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2019). Review on bile acids: Effects of the gut microbiome, interactions with dietary fiber, and alterations in the bioaccessibility of bioactive compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(33), 9124-9138.
99. Siró, I., & Plackett, D. (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: A review. *Cellulose*, 17(3), 459-494.
100. Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417-1435.
101. Syeda, T., Sanchez-Tapia, M., Pinedo-Vargas, L., Granados, O., Cuervo-Zanatta, D., Rojas-Santiago, E., ... & Perez-Cruz, C. (2018). Bioactive food abates metabolic and synaptic alterations by modulation of gut microbiota in a mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 66(4), 1657-1682.
102. The Earth Microbiome Project Data Site..., [http://www.earthmicrobiome.org/emp-standard-protocols/]
103. Thukral, A. K. (2017). A review on measurement of Alpha diversity in biology. *Agric. Res. J*, 54(1), 1-10.
104. Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, 474(11), 1823-1836.
105. Vandeputte, D., Falony, G., Vieira-Silva, S., Tito, R. Y., Joossens, M., & Raes, J. (2016). Stool consistency is strongly associated with gut microbiota richness and composition, enterotypes and bacterial growth rates. *Gut*, 65(1), 57-62.
106. Vieira-Silva, S., Falony, G., Darzi, Y., Lima-Mendez, G., Yunta, R. G., Okuda, S., ... & Raes, J. (2016). Species–function relationships shape

- ecological properties of the human gut microbiome. *Nature Microbiology*, 1(8), 1-8.
107. Vilcanqui-Pérez, F. (2017). 10. Fibra dietaria: nuevas definiciones, propiedades funcionales y beneficios para la salud. Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 67(2).
108. Wang, M., Wichienchot, S., He, X., Fu, X., Huang, Q., & Zhang, B. (2019). In vitro colonic fermentation of dietary fibers: Fermentation rate, short-chain fatty acid production and changes in microbiota. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 1-9.
109. Weickert, M. O., & Pfeiffer, A. F. (2008). Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *The Journal of Nutrition*, 138(3), 439-442.
110. Willett, W. C., Howe, G. R., & Kushi, L. H. (1997). Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 65(4), 1220S-1228S.
111. Wong, J. M., De Souza, R., Kendall, C. W., Emam, A., & Jenkins, D. J. (2006). Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 40(3), 235-243.
112. World Health Organization. (2000). Obesity: Preventing and managing the global epidemic (No. 894). World Health Organization.
113. World Medical Association. (2013). World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *Jama*, 310(20), 2191-2194.

114. Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y. Y., Keilbaugh, S. A., ... & Sinha, R. (2011). Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 334(6052), 105-108.
115. Yao, B., Fang, H., Xu, W., Yan, Y., Xu, H., Liu, Y., ... & Zhao, Y. (2014). Dietary fiber intake and risk of type 2 diabetes: A dose–response analysis of prospective studies.