

Influencia de la ingesta de macronutrientes, en la concentración de *Bacteroidetes*

Disbiosis en la microbiota intestinal

Alejandro Soberanes-Higuera¹, Luis Alcántara-Jurado^{1,*}, Eugenia Pérez-Morales¹ y Raquel Muñiz Salazar²

Facultad Ciencias Químicas e Ingeniería¹, Escuela de Ciencias de la Salud²
Universidad Autónoma de Baja California¹, Universidad de Baja California²
Tijuana B.C.¹, Ensenada, B.C., México²,

[soberanesa, eugenia, ramusal]@uabc.edu.mx

*Autor de correspondencia luis.alcantara@uabc.edu.mx

Abstract— The objective was to conduct an analysis of studies made about the impact of the macronutrients in the diet within the intestinal microbiome and the decrease of the phylum *Bacteroidetes* linked to a dysbiosis, by researching articles published in a scientific base data of 2007-2017, to evaluate the effects of the diet on the intestinal microbiome. There were included eight articles and the macronutrients in the diet of obese individuals, the microbiome composition, the variation in the concentration of the phylum *Bacteroidetes* and *Firmicutes* in the diet and the dysbiosis for a lipid diet were analyzed. Reports of Dysbiosis for lipid diets and a *Bacteroidetes/Firmicutes* disproportion. The consumption of proteins and supplementing the diet with unsaturated fatty acids revert the intestinal dysbiosis.

Keyword— *Macronutrients, dysbiosis, microbiome, Bacteroidetes.*

Resumen— El objetivo fue realizar un análisis de estudios sobre el impacto de los macronutrientes de la dieta en el microbioma intestinal y la disminución del phylum *Bacteroidetes* vinculados a una disbiosis, mediante la investigación de artículos publicados en bases de datos científicas, de 2007-2017, para evaluar efectos de la dieta sobre el microbioma intestinal. Se incluyeron ocho artículos y se analizaron los macronutrientes en la dieta de individuos obesos, la composición del microbioma, la variación en la concentración de los phylum *Bacteroidetes* y *Firmicutes* en la dieta y disbiosis por una dieta lipídica. Reportes de disbiosis por dietas lipídicas y una desproporción de *Bacteroidetes/Firmicutes*. La ingesta de proteínas y suplementar la dieta con ácidos grasos insaturados revierten la disbiosis intestinal.

Palabras claves— *Macronutrientes, disbiosis, microbioma, Bacteroidetes.*

I. INTRODUCCIÓN

Se considera que en el intestino humano existe una gran diversidad bacteriana, de los 100 trillones de microorganismos que lo habitan, los principales filos predominantes son *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, ésta microbiota tiene una capacidad metabólica mejor que la del ser humano debido a que codifica aproximadamente más de 10 millones de genes en comparación a los 19 mil en humanos, además de ser una comunidad bacteriana con una población tan grande que sobrepasa a las comunidades microbianas del suelo, subsuelo y los océanos [1-5].

La obesidad es el resultado de un desequilibrio entre el gasto y la ingesta calórica. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2016 el 13% de la población mundial adulta tenía obesidad, compuesta por el 11% de hombres y el 15% de mujeres [6]. Mientras que en Estados Unidos el U.S. Department of Health and Human Services reportó en 2014 que el 36.5 % de adultos tenían obesidad [7], en México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición reportó en 2016 una prevalencia de obesidad del 76.6 % en adultos mayores de 20 años, 87.7 % en mujeres y 65.4 % en hombres [8].

Se ha demostrado en estudios con modelos animales y humanos que la microbiota intestinal contribuye al buen funcionamiento del tracto digestivo, que complementa la absorción de energía obtenida de la dieta a través de la regulación del tránsito gastrointestinal y cumple la función de metabolizar polisacáridos no digeribles por el intestino, así como la internalización de los ácidos grasos de cadena corta que se producen durante el proceso de fermentación de los carbohidratos [9]. Este

padecimiento con el tiempo se ha relacionado con la microbiota intestinal, incrementándose el interés por estudiar la relación entre la dieta y el microbioma humano [10].

Una dieta balanceada, provee la concentración adecuada de nutrientes tanto para la microbiota intestinal como para el mismo humano, beneficiando a ambos, las bacterias proveen de enzimas que no son codificadas para ser producidas por el intestino y que facilitan la degradación de polisacáridos. Variaciones significativas en la composición y balance de la dieta han demostrado cambios en el equilibrio de la microbiota intestinal, lo anterior se considera como un factor que contribuye al estado de obesidad del individuo [11, 12].

Por otra parte, los micronutrientes que forman parte de la dieta son sustratos y cofactores que se necesitan para llevar a cabo procesos fisiológicos del hospedero, tales como, la síntesis y reparación del ADN, el crecimiento celular, la transducción, la transaminación, reacciones de la metil transferasa, descarboxilaciones, y procesos extracelulares como la transferencia de electrones, cuando estos no son absorbidos, el microbioma humano cumple con estos procesos estableciendo así una relación simbiótica [13]. Las bacterias del intestino inhiben expresiones genéticas relacionadas con la biosíntesis de micronutrientes, este fenómeno permite que contribuya con su metabolismo al internalizarlos de su entorno [14].

En un estudio realizado por Hibberd, et al. [15] se demuestra que la falta de un micronutriente como la vitamina A, el hierro, el zinc o el ácido fólico el cuerpo sufre un cambio significativo en la composición de la microbiota intestinal y que, los factores ambientales tales como los ácidos grasos de cadena corta, abundantes sales biliares, el pH, el potencial redox y el moco intestinal llevan a la microbiota a una gran variación bacteriana. Cuando hay escases de micronutrientes algunas bacterias liberan bacteriocinas para evitar una competencia por recursos ante otros microorganismos que forman parte de la población intestinal conduciendo la microbiota hacia una disbiosis bacteriana [15-19].

La microbiota intestinal se compone por especies con una afinidad por degradar componentes no digeribles de la dieta, tales como, los polisacáridos complejos como la celulosa, el xylan y la pectina y aquellos que son resistentes a enzimas hidrolíticas del intestino como la inulina y ciertos oligosacáridos [20].

Los hábitos alimenticios cotidianos que permanecen por mucho tiempo, tienen un impacto sobre la microbiota intestinal, de tal manera que, se dificulta la recuperación de la variación bacteriana cuando se intenta recuperar el equilibrio en el microbioma. El efecto terapéutico de la dieta sobre la microbiota intestinal es proporcional al tiempo en que se ha establecido un hábito alimenticio, ya que entre más largo sea el lapso del consumo de una dieta no balanceada, más se complica y se prolonga la recuperación de la variedad en la microbiota intestinal, por lo tanto, en algunos individuos con obesidad será difícil o tardado recuperar la microbioma inicial con el cambio a una dieta balanceada [21].

Una microbiota intestinal que tiene una escasa diversidad bacteriana, se convierte en un factor asociado a más estados de enfermedad del individuo como la obesidad. Un cambio a tiempo en la ingesta balanceada de macronutrientes (carbohidratos, lípidos y proteínas) promueve un mejor funcionamiento y una mayor diversidad bacteriana del microbioma, por lo tanto, se observa una mejora significativa en la salud de cada individuo y una mejor relación simbiótica con la microbiota intestinal, con una razón microbioma/nutrición equilibrada que favorece al hospedero en terapias complementarias en enfermedades infecciosas [22].

El objetivo de esta revisión sistemática fue realizar un análisis de estudios sobre el impacto de los macronutrientes de la dieta en el microbioma y la disminución del phylum *Bacteroidetes* vinculados a una disbiosis mediante la investigación de artículos publicados en la base de datos MEDLINE/Pub-Med, SciELO, EBSCO y ScienceDirect, de 2007 a 2017, para evaluar y seleccionar los criterios metodológicos en el estudio del efecto de la dieta sobre el microbioma.

II. METODOLOGÍA

Se revisaron todos los artículos originales encontrados en inglés y español publicados en las bases de datos de MEDLINE/PubMed, SciELO, EBSCO y ScienceDirect de 2007 a 2017, de estudios sobre macronutrientes y microbiota intestinal relacionados con una disbiosis bacteriana. Para esta revisión se consideró como criterio de inclusión: macronutrientes (carbohidratos, lípidos y proteínas), disbiosis en la microbiota intestinal con relación a *Bacteroidetes/Firmicutes* y estudios en humanos adultos y animales con y sin obesidad. Se realizó la búsqueda con las palabras clave: “macronutrients”, “dysbiosis”, “microbiome”, “*Bacteroidetes*”.

Los artículos fueron evaluados por dos investigadores (Soberanes y Alcántara). En caso de divergencia fueron evaluados por dos investigadores mas (Pérez y Muñiz) y se logró un consenso.

III. RESULTADOS

Utilizando todas las combinaciones de las palabras clave en la búsqueda electrónica se encontraron en la base de datos de MEDLINE/Pub-Med 5198 artículos, SciELO siete artículos, EBSCO 101 artículos y ScienceDirect 3327 artículos. Al aplicar los criterios de inclusión, la fecha de inclusión y descartar los artículos repetidos, se seleccionaron 207 artículos potenciales, de estos se analizaron título y/o el resumen de cada uno y se eliminaron 199 que no cumplieron con los criterios de la revisión, por lo que resultaron ocho estudios para el análisis y evaluación en esta revisión (Fig. 1). En la Tabla I se muestra el macronutriente estudiado en la dieta, el modelo utilizado, una descripción relevante y hallazgos obtenidos. Se analizaron los diferentes tipos de macronutrientes de la dieta y su impacto sobre la microbiota intestinal del modelo en estudio. Solo una investigación fue realizada en humanos [23], los demás autores utilizaron ratones como modelo animal [24-30].

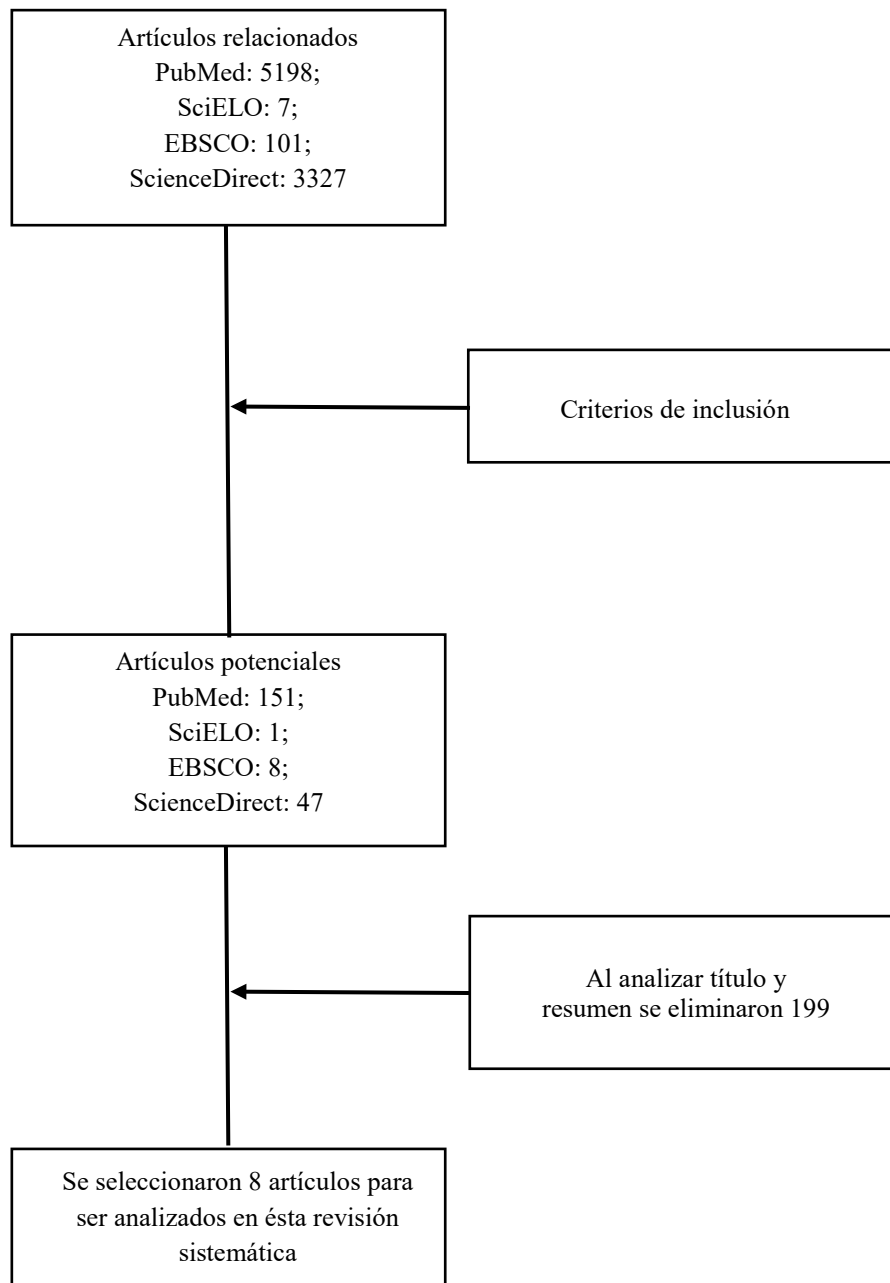


Fig. 1. Revisión sistemática

Tabla I. Estudios relacionados con macronutrientes y microbioma intestinal

Referencia	Macronutrient e en la dieta	Tipo de población	Secuenciación	Descripción	Hallazgos
					Tipo de modificación en la microbioma intestinal de acuerdo a la base de la dieta
Hildebrandt, et al. [26]	Lípidos	10 Ratones	Deep sequencing	Se utilizaron ratones alimentados con una dieta alta en grasa. En la semana 21 de dieta alta en grasas se tomaron muestras de heces. Después de 3 meses de una dieta alta en grasas se observaron cambios significativos en la microbiota intestinal.	↑[Lípidos] ↓[Bacteroidetes] ↑[Firmicutes y Proteobacteria]
Wu, et al. [23]	Lípidos Proteínas Carbohidratos	98 Humanos	454/Roche pyrosequencing	Se realizaron entrevistas sobre la dieta a 98 personas. Microbiota intestinal caracterizada principalmente por <i>Bacteroidetes</i> y <i>Prevotella</i> . Proteínas y lípidos asociados a <i>Bacteroidetes</i> y carbohidratos a <i>Prevotella</i> .	↑[Lípidos] ↑[Proteínas] ↓[Carbohidratos] ↑[Bacteroidetes] ↓[Firmicutes] ↑[Carbohidratos] ↓[Lípidos] ↓[Proteínas] ↓[Bacteroidetes] ↑[Firmicutes]
Faith, et al. [24]	Lípidos Proteínas Carbohidratos	13 Ratones	Shotgun sequencing	Se utilizaron ratones implantados con un grupo de bacterias secuenciada, se alimentaron con una dieta variada de macronutrientes (caseína = proteína, aceite de maíz = lípido, almidón de maíz y sacarosa = carbohidratos).	↑ [Proteína] ↑ [Bacteroidetes] ↓ [Firmicutes] ↓ [Proteína] ↓ [Bacteroidetes] ↑ [Firmicutes]
Mujico, et al. [28]	Lípidos	18 Ratones	Secuenciación Sanger	Se observó el efecto de suplementos, uno derivado del ácido oleico (S1) y el otro una combinación de ácidos grasos n-3 (S2). Se alimentaron ratones con dietas alta en grasa y la adición de los suplementos S1 y S2 a la dieta. Los phylum <i>Bacteroidetes</i> y <i>Firmicutes</i> se ven afectados por la composición de estas dietas.	↑[Lípidos] ↓[Bacteroidetes] ↑[Firmicutes] ↑[Lípidos+S1] ↑[Bacteroidetes] ↓[Firmicutes] ↑[Lípidos+S2] = [Bacteroidetes] ↑[Firmicutes]
Ghosh, et al. [29]	Lípidos	Ratones (edad 2 años)	FISH	Se alimentaron ratones con tres dietas basadas en grasa. Aceite de canola, aceite de maíz y aceite de maíz con suplemento de aceite de pescado. Una dieta con altos contenidos de n-6 AGPI causa una disbiosis en el intestino e induce a un estado de inflamación y ganancia de peso, incrementando la proporción entre <i>Bacteroidetes</i> / <i>Firmicutes</i> .	↑[AGPI] ↓[Bacteroidetes]/↑[Firmicutes] ↑[AGPI+S] ↔ [Bacteroidetes/ <i>Firmicutes</i>]
Huang, et al. [30]	Lípidos	Ratones (edad 7 a 10 semanas)	Illumina sequencing	Se alimentaron ratones durante cuatro a cinco semanas con una dieta alta en grasa basadas en leche con alto contenido de grasa, manteca de cerdo y aceite de cártamo. Una dieta alta en grasa incrementó la proporción entre <i>Bacteroidetes</i> / <i>Firmicutes</i> .	↑[Lípidos] ↓[Bacteroidetes]/↑[Firmicutes]
Alcock and Lin [27]	Lípidos Proteínas Carbohidratos	Revisión	-	Reportan resultados que demuestran una relación significativa de los ácidos grasos de cadena larga con una disbiosis bacteriana en el intestino y por el contrario, los ácidos grasos de cadena corta protegen contra la disbiosis.	↑ [Ácidos grasos saturados] ↓[Bacteroidetes]/↑[Firmicutes] ↑ [Ácidos grasos insaturados] ↔ [Bacteroidetes/ <i>Firmicutes</i>]
Kübeck, et al. [25]	Lípidos	24 Ratones	High-throughput sequencing	Se utilizaron ratones alimentados con una dieta alta en grasa durante 4 semanas. Los ratones no mostraron ganancia de masa corporal significativa pero si un aumento en la variedad bacteriana del microbioma, con la disminución de la concentración de <i>Bacteroidetes</i> .	↑ [Lípidos] ↓[Bacteroidetes] ↑[Firmicutes]

↑: Aumento; ↓: disminuye; ↔: mantiene.

IV. DESCRIPCIÓN DE LOS ESTUDIOS

Hildebrandt, et al. [26] realizaron estudios en la microbiota intestinal valiéndose de las características de la proteína RELM β en el intestino. Utilizaron cinco ratones con expresión fenotípica de la proteína RELM β dependiente de la microbiota intestinal. RELM β es producida en el lumen por células caliciformes y puede ser encontrada fácilmente en muestras de heces y en suero sanguíneo. Una dieta alta en grasa induce significativamente la producción de la proteína RELM β . Además, se seleccionaron para la investigación cinco ratones silvestres. Se utilizaron dos tipos de dieta, la comida de ratón estándar y una dieta alta en grasa, cada ratón tenía acceso libre a la comida. Los ratones fueron alimentados con la dieta estándar por 13 semanas y 21 semanas con la dieta alta en grasa, al final de cada ciclo de dieta se recolectaron muestras de heces. Las heces fueron almacenadas a -80 °C para extraer su ADN con el kit 454/Roche, posteriormente se les realizó una secuenciación masiva *16S* ARNr. Se identificaron los niveles taxonómicos de las secuencias de ADN con un BLAST (bit score > 50), utilizando el software MEGAN 6 para el análisis de datos. Para ambos grupos de ratones durante la dieta estándar no se observó diferencia significativa entre las comunidades bacterianas, siendo *Bacteroidetes* y *Firmicutes* las más abundantes, otros phylum menos abundantes pero que fueron detectadas son Proteobacteria, Tenericutes. Respecto a la dieta alta en grasa (≥ 45 % kcal), los ratones silvestres mostraron un cambio radical en la composición del microbioma, *Firmicutes* aumentó su concentración con respecto al phylum *Bacteroidetes*, además de que Delta-Proteobacteria también se vio en un aumento significativo. En contraste con los ratones con expresión fenotípica de la proteína RELM β se observó que 15 familias del phylum *Bacteroidetes* disminuyeron su concentración después de una dieta lipídica, mientras que para ratones silvestres fueron 30. También realizaron Metagenómica a las muestras, pero obtuvieron resultados similares donde se atribuye a las dietas lipídicas o altas en grasa a una disbiosis bacteriana del microbioma.

Wu, et al. [23] investigaron la relación de las variables ambientales (Edad y genética) asociada con la dieta y sus macronutrientes que afectan a la microbiota intestinal. A través de un análisis transversal, donde 98 individuos humanos sanos, el grupo fue denominado COMBO. Se les aplicó dos encuestas referentes a sus hábitos alimenticios recientes (Recall) y sus hábitos alimenticios a largo plazo (FFQ). Además, un segundo estudio fue realizado a la par donde seleccionaron a 10 personas hospitalizadas con alimentación controlada, a éste grupo se le denominó CAFE, donde se comparó una dieta alta en grasa y baja en carbohidratos (Calorías totales: grasa 38%, carbohidratos 35% y proteínas 27%) contra una dieta baja en grasa y alta en carbohidratos (Calorías totales: grasa 13%, carbohidratos 69% y proteínas 18%). Las muestras de COMBO fueron heces y se les realizó un análisis de ADN por pirosecuenciación 454/ROCHE del gen *16S* ADNr y para muestras especiales (CAFE) por Metagenómica tipo Shotgun. El grupo CAFE se evaluó con biopsias rectales tomadas y analizadas el día uno y 10. En el grupo COMBO se realizaron PERMANOVAs en cada tipo de encuesta, se identificaron 72 (Recall) y 97 (FFQ) Microbioma/Macronutriente asociaciones relacionado con los hábitos alimenticios recientes y a largo plazo respectivamente. Se utilizó la correlación de Spearman para relacionar cada macronutriente con 78 taxas considerados por tener una significancia estadística en abundancia del ≥ 0.2 %, que se encuentran en al menos el 10 % de las muestras. Los phylum asociados positivamente con lípidos y negativamente con carbohidratos fueron predominantemente *Bacteroidetes* y *Actinobacteria*, por otro lado, *Firmicutes* y *Proteobacterias* mostraron el comportamiento opuesto. Para el grupo CAFE no hubo variación significativa ($p=0.01$) entre los phylum predominantes de la microbiota intestinal de aquellos individuos alimentados con la misma dieta, lo que demuestra que una dieta a corto plazo no tiene relevancia en el Microbioma. Los cambios significativos en la composición de la microbiota intestinal se hicieron notar a las 24 h de comenzar la alimentación controlada. Cuando se produce una disbiosis en la relación *Bacteroidetes/Firmicutes* por una dieta alta en grasa y baja en carbohidratos, el individuo se vincula a estados de enfermedad en el intestino, como el síndrome del intestino inflamado, cuando la disbiosis se produce por una dieta baja en grasa y alta en carbohidratos prevalece más el estado de obesidad.

Faith, et al. [24] realizaron estudios en ratones Gnotobioticos para observar los cambios en la composición del microbioma producidos por el tipo de dieta. El intestino de 13 ratones fue colonizado con 10 especies bacterianas que predominan en el intestino humano y cumplen con diferentes funciones. *Bacteroides thetaiotaomicron*, *B. ovatus* y *B. caccae* que se caracterizan por presentar funciones metabólicas capaces de romper cadenas de polisacáridos que no son metabolizados por el intestino humano. *Eubacterium rectale*, *Marvinbryantia formatexigens*, *Collinsella aerofaciens*, *Escherichia coli* que son consumidoras de azúcares simples y oligosacáridos. *Clostridium symbiosum* y *E. coli* fermentadores de amino ácidos. Por último, incluyeron dos especies removedoras de productos de la fermentación, *Desulfovibrio piger* consumidor de hidrogeno y reductor de sulfatos y *Blautia hydrogenotrophica* productor de acetato y consumidor de hidrogeno. Para manipular la microbiota intestinal se utilizaron dietas con ingredientes representativos de cada macronutriente, la caseína constituye la proteína, el aceite de maíz a los lípidos, el almidón de maíz los polisacáridos y la sacarosa al azúcar simple. Cada ratón fue alimentado con dietas asignadas aleatoriamente cambiando cada dos semanas. Se analizaron muestras fecales de los ratones en los días uno, dos, cuatro, siete y 14 de cada periodo de dieta con secuenciación tipo Shotgun. Utilizando un modelo lineal, Faith, et al. [24], logró explicar gran parte de la variación y la cantidad de cada microorganismo de la microbiota intestinal con solo conocer las especies presentes y las concentraciones de los macronutrientes sin considerar las interacciones entre la población bacteriana y el hospedero. Se observó que para *E. coli* y *C. symbiosum* tenían relación con más de una variable significativa entre las concentraciones del macronutriente y de la especie, siendo caseína y sacarosa para *E. coli* y caseína y almidón para *C. symbiosum*. Las especies *E. rectale*, *D. piger*, y *M. formatexigens* se vieron significativamente afectadas, observándose una relación inversamente proporcional con la concentración de caseína. Una dieta con altos niveles de caseína (consumo ≥ 460 g/kg) hace cambios significativos en la microbiota intestinal como los casos ya mencionados. También modificó la concentración de *B. caccae*, así como los niveles genéticos de las especies *B. hydrogenotrophica* o *D. piger* y *B. hydrogenotrophica*.

Mujico, et al. [28] evaluaron la posibilidad de modular la composición de la microbiota intestinal a través de suplementos en la dieta, una composición derivada del ácido oleico (S1) y una combinación de ácidos grasos n-3 (S2). Se utilizaron 18 ratones hembra con ocho semanas de nacidos, fueron puestos en un ambiente controlado con acceso libre a comida y agua. Después de cuatro semanas de adaptación, los ratones fueron separados en cuatro grupos correspondientes al tipo de dieta. Dieta control (DC) alimentados con la comida ordinaria hasta el final del estudio, dieta alta en grasa (DAG, 34.3 % de grasa), el grupo DAG con suplemento S1 alimentados por ocho semanas con DAG y después siete semanas con DAG-S1 y el grupo DAG con suplemento S2 alimentados por ocho semanas con DAG y después siete semanas con DAG-S2. Al final del estudio, en la semana 19, se tomaron muestras fecales de cada ratón y se almacenaron a -80 °C. Para el análisis de la composición microbiana se extrajo ADN de las heces congeladas con el kit QIAmo DNA Stool Mini Kit (QIAGEN GmbH) siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración de ADN fue determinada por fluorometría basado en el fluorocromo Hoechst 33 258 del kit Fluorescent DNA Quantification Kit de Bio Rad. La cuantificación bacteriana del intestino fue determinada a través de la secuenciación Sanger *16S* ARNr y con PCR cuantitativo (qPCR). Al finalizar el estudio, los ratones con DAG aumentaron de peso progresivamente. Al comparar los ratones DAG contra ratones DC, se observa que DAG induce a un aumento en los phylum *Firmicutes* y un descenso en el phylum *Bacteroidetes*. DAG-S1 incita una disminución del phylum *Firmicutes* y un aumento del phylum *Bacteroidetes*. DAG-S2 no provocó cambios en la concentración del phylum *Bacteroidetes*, pero si un aumento en el phylum *Firmicutes*. Al comparar los resultados de los análisis bacterianos contra el peso corporal, se encontró que existe una correlación positiva significativa ($p=0.0154$) del phylum *Firmicutes* mientras que, una correlación negativa significativa ($P=0.0279$) se observó con el phylum *Bacteroidetes*. El consumo de DAG induce a cambios en la microbiota intestinal, el suplemento derivado del ácido oleico contrarrestó los efectos negativos de ésta dieta y está relacionado

con mecanismos para restaurar la microbiota intestinal, invirtiendo la disbiosis en conjunto de una mejora en el peso corporal.

Ghosh, et al. [29] investigaron el efecto de una dieta con alto contenido de ácido linoleico (n-6), un ácido graso poliinsaturado (AGPI). Utilizaron ratones hembra C57BL/6 con dos años de edad. Fueron alimentados con una dieta control de comida ordinaria basada en carbohidratos y tres tipos de dieta AGPI por un periodo de 33 días. Los aceites utilizados en las dietas altas en grasa (40% de grasa) fueron aceite de canola (de bajo n-6), aceite de maíz (de alto n-6) y aceite de maíz suplementado con aceite de pescado (de alto n-6 más una larga cadena de n-3 AGPI). Al finalizar el periodo de alimentación, los ratones fueron sacrificados. Se extrajeron muestras del íleon del intestino delgado y fueron analizados a través de la aplicación de la técnica de hibridación fluorescencia in situ (FISH). Observaron que la dieta con aceite de maíz aumentó la concentración de bacterias en el intestino, por el contrario, aquellos ratones alimentados con el suplemento de aceite de pescado revirtieron los efectos del aumento de concentración bacteriana a niveles normales observados en los ratones con dieta control. Al comparar la dieta control con la de aceite de maíz y aceite de canola, mostraron cambios en la disbiosis, el efecto del tipo de dieta basado en aceite de maíz provocó la pérdida total de *Bacteroidetes* y la disminución de la concentración de *Firmicutes*, mientras que la dieta basada en aceite de canola disminuye la concentración de ambos phylum y el equilibrio de la relación *Bacteroidetes/Firmicutes*. Estos cambios en la microbiota intestinal por las dietas de aceite de maíz y de canola incrementan la proporción entre *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, asociados a un aumento de masa corporal y a estados de enfermedad como la obesidad. La dieta con AGPI con suplemento de aceite de pescado mostró resultados con proporciones cercanas a la dieta control con una pérdida de peso comparado con el grupo alimentado con AGPI.

Huang, et al. [30] examinaron la influencia de una dieta basada en grasas (58.5 % de grasa) sobre la composición de la microbiota intestinal. Utilizaron ratones C57BL/6 machos de siete a 10 semanas de nacidos. Los ratones fueron alimentados durante cuatro a cinco semanas con tres tipos de dietas basadas en leche alta en grasa, manteca de cerdo y aceite de cártamo. Los ratones fueron sacrificados en cámaras de CO₂ y se extrajeron heces del contenido cecal y distal del intestino grueso y fue almacenado a -80 °C. Se extrajo el ADN, se realizó PCR y la secuenciación Illumina 16S ARNr. Los ratones alimentados con una dieta alta en grasa mostraron una ganancia de peso mayor no significativa que los ratones con dieta control. Ésta investigación demostró que la microbiota intestinal es altamente susceptible a cambios inducidos por dieta alta en grasa, modulando la composición del microbioma en el tratamiento complementario de la inflamación y obesidad.

Alcock y Lin [27] establecen en su revisión que una dieta con altos contenidos de grasa y niveles elevados de ácidos grasos son factores que aumentan el riesgo de adquirir un síndrome metabólico y obesidad. El almacenamiento de grasas en los adipocitos de un individuo está vinculado a los cambios en la composición bacteriana de la microbiota intestinal. Los ácidos grasos de cadenas largas y ácidos grasos libres en una dieta son componentes que provocan una disbiosis bacteriana en el microbioma. Además, algunos suplementos de ácidos grasos de cadena corta en las dietas con altos contenidos de grasa tienen un efecto benéfico, estimulando mecanismos para la reconstrucción del microbioma y así, prevenir una disbiosis y revertir el proceso de inflamación y obesidad.

Kübeck, et al. [25] evaluó en su estudio los efectos que tiene una dieta alta en grasa y la obesidad inducida por la dieta sobre la microbiota intestinal. Se utilizaron ratones machos C57BL/6N libres de gérmenes (LG) y ratones libres de patógenos (LP), alimentados con una dieta alta en grasa basadas en manteca de cerdo y aceite de palma. Los ratones permanecieron enjaulados en condiciones específicas después de su nacimiento (LG en jaulas abiertas aisladas y ventiladas con filtros HEPA y LP en jaulas individuales). A las ocho semanas de nacer se les asignó una dieta controlada (12% kcal de grasa) durante cuatro semanas, a las 12 semanas la dieta control fue cambiada por una dieta alta en grasa (48% kcal de grasa) basada en aceite de palma o grasa de cerdo. Se tomaron muestras del ciego y los aislamientos se

identificaron utilizando la secuenciación High-throughput *16S* ARNr y qPCR. Los ratones LG ganaron más masa corporal con la dieta basada en aceite de palma respecto a la dieta basada en manteca de puerco, por otro lado, los ratones LP no tuvieron ganancia independientemente del tipo de dieta. El primer análisis no tenía resultado significativo ($p = 0.1906$) referente a la diversidad bacteriana dentro de la microbiota intestinal, pero tomando en cuenta los phylum dominantes y a través del cálculo de Shannon se identificó un aumento en la concentración de algunas especies y un descenso de otras. Aquellos ratones alimentados con ambas dietas alta en grasa mostraron una característica que los alejaba del grupo control, se observó que las especies pertenecientes a *Bacteroidetes* disminuían su concentración, mientras que especies Clostridiales spp, pertenecientes a *Firmicutes*, tuvieron un aumento en su concentración. Ambas dietas fueron relacionadas con una disbiosis por la población de *Bacteroidetes*.

V. DISCUSIÓN

Se estudió el efecto de los macronutrientes sobre el equilibrio de la relación entre *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, el primero se realizó en individuos con obesidad y el segundo en ratones, utilizaron la misma técnica de identificación y secuenciación para el microbioma. Los estudios coinciden en que una dieta alta en proteínas incrementa la proporción de la relación *Bacteroidetes/Firmicutes*, al aumentar la concentración del phylum *Bacteroidetes* [23, 24].

La identificación de la microbiota intestinal fue realizada a través de la aplicación de las técnicas de secuenciación del gen *16S* ARNr: Secuenciación masiva [26], pirosecuenciación 454/Roche [23], Shotgun [24], Sanger [28], FISH [29], High-throughput [25].

Se observó que el alto contenido de lípidos en una dieta disminuye la concentración de *Bacteroidetes* [23, 25, 26, 28, 30]. Los resultados fueron comparables a lo observado por otro autor en sus estudios [31]. También, se observó que al agregar proteínas a una dieta lipídica la concentración de *Bacteroidetes* aumentó [23]. Una dieta con un alto contenido de grasa está asociada al phylum *Bacteroidetes*, provocando un aumento de la proporción en la relación de *Bacteroidetes/Firmicutes* y una disbiosis en el intestino [27]. Éstos resultados concuerdan con la investigación realizada en puercos por en una investigación donde un aumento de la proporción en la relación de *Bacteroidetes/Firmicutes* es resultado de una dieta alta en grasa [32].

Se realizaron estudios del efecto de una dieta alta en grasa sobre la microbiota intestinal, en una investigación se observó que al suplementar una dieta alta en grasa con proteínas la concentración de *Bacteroidetes* incrementó y la de *Firmicutes* disminuyó, mientras que otro estudio observó que al agregar un suplemento de ácidos grasos como aceite de pescado revierte la disbiosis en el intestino [23, 29]. Esto contrarresta los efectos reportados en otra investigación de ácidos grasos poliinsaturados omega-6 en la dieta, donde se demuestra que provocan disbiosis en el intestino [33].

Los resultados demostrados con una dieta alta en grasa y suplementos se comparan con otro estudio realizado donde, la relación *Bacteroidetes/Firmicutes* se ve equilibrada por la adición de un suplemento enzimático con fibra fermentable a una dieta alta en grasa [34].

Mientras unos autores observaron en sus estudios que la ingesta de proteínas aumenta la concentración de *Bacteroidetes* [23, 24], revelaron en sus estudios lo contrario, ya que la ingesta de carbohidratos y proteínas disminuye la concentración de *Bacteroidetes* [35].

Diversos estudios demostraron que, bajos contenidos de carbohidratos en dietas con alto contenido de ácidos grasos saturados o de proteínas, provoca un aumento de la proporción en la relación de *Bacteroidetes/Firmicutes* y una disbiosis en el intestino [24, 27, 28].

Otros estudios también evaluaron el efecto de la dieta sobre la microbiota intestinal en ratones. Observaron que los ratones con una dieta rica en proteínas o grasas incrementan la proporción de *Bacteroidetes* y *Firmicutes* en el intestino [24, 29, 30].

Se evaluó en ratones el impacto de una dieta alta en grasas suplementada con ácidos grasos sobre la microbiota intestinal. Las investigaciones reportaron que una dieta alta en grasa disminuye la proporción normal de *Bacteroidetes* y *Firmicutes* en el intestino, principalmente la concentración del phylum *Bacteroidetes*; al suplementar la dieta alta en grasas con ácidos grasos se activan mecanismos para recuperar la variedad bacteriana del microbioma [28, 29].

VI. CONCLUSIONES

1. Dietas basadas en altos contenidos de lípidos, ingesta de energía ≥ 40 % [29], disminuye la concentración de *Bacteroidetes*, incrementando la proporción *Bacteroidetes/Firmicutes*.
2. La adición de ácidos grasos insaturados como ácido linoleico o aceite de pescado en dietas con altos contenidos de grasas revierte la disbiosis en el microbioma al incrementar la concentración de *Bacteroidetes*.
3. Al aumentar la cantidad de proteínas en una dieta lipídica, se incrementa la concentración de *Bacteroidetes* de la microbiota intestinal revirtiendo la disbiosis.
4. Los efectos de una dieta alta en proteínas demuestran que, en la microbiota intestinal incrementa la proporción de la relación *Bacteroidetes/Firmicutes*, con un aumento en la concentración del phylum *Bacteroidetes*.

REFERENCIAS

- [1] H. Tan and P. W. O'Toole, "Impact of diet on the human intestinal microbiota," *Current Opinion in Food Science*, vol. 2, pp. 71-77, 2015/04/01/ 2015.
- [2] M. Shaffer, A. J. S. Armstrong, V. V. Phelan, N. Reisdorph, and C. A. Lozupone, "Microbiome and metabolome data integration provides insight into health and disease," *Translational Research*, vol. 189, pp. 51-64, 2017/11/01/ 2017.
- [3] M. E. Icaza-Chávez, "Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad," *Revista de Gastroenterología de México*, vol. 78, pp. 240-248, 2013/10/01/ 2013.
- [4] D. M. A. E. Jonkers, "Microbial perturbations and modulation in conditions associated with malnutrition and malabsorption," *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, vol. 30, pp. 161-172, 2016/04/01/ 2016.
- [5] T. Requena, P. Cotter, D. R. Shahar, C. R. Kleiveland, M. C. Martínez-Cuesta, C. Peláez, et al., "Interactions between gut microbiota, food and the obese host," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 34, pp. 44-53, 2013/11/01/ 2013.
- [6] Organización Mundial de la Salud, "Obesidad y sobrepeso," <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/2017>.
- [7] National Center for Health Statistics, "Health, United States, 2016: With Chartbook on Long-term Trends in Health.," U.S. Government Printing Office Washington, Hyattsville, MD2017.
- [8] Instituto Nacional de Salud Pública, "Encuesta Nacional de Salud y Nutrición," 2016.
- [9] G. K. John and G. E. Mullin, "The Gut Microbiome and Obesity," *Current Oncology Reports*, vol. 18, p. 45, 2016/06/02 2016.
- [10] I. T. W. Harley and C. L. Karp, "Obesity and the gut microbiome: Striving for causality," *Molecular Metabolism*, vol. 1, pp. 21-31, 2012/12/01/ 2012.
- [11] S. E. Power, P. W. O'Toole, C. Stanton, R. P. Ross, and G. F. Fitzgerald, "Intestinal microbiota, diet and health," *British Journal of Nutrition*, vol. 111, pp. 387-402, 2013.

- [12] L. G. Albenberg and G. D. Wu, "Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease," *Gastroenterology*, vol. 146, pp. 1564-1572, 02/04 2014.
- [13] C. A. Lozupone, J. I. Stombaugh, J. I. Gordon, J. K. Jansson, and R. Knight, "Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota," *Nature*, vol. 489, pp. 220-230, 2012.
- [14] P. H. Degnan, M. E. Taga, and A. L. Goodman, "Vitamin B(12) as a modulator of gut microbial ecology," *Cell metabolism*, vol. 20, pp. 769-778, 11/04 2014.
- [15] M. C. Hibberd, M. Wu, D. A. Rodionov, X. Li, J. Cheng, N. W. Griffin, et al., "The effects of micronutrient deficiencies on bacterial species from the human gut microbiota," *Science translational medicine*, vol. 9, p. eaal4069, 2017.
- [16] N. Mach and A. Clark, "Micronutrient Deficiencies and the Human Gut Microbiota," *Trends in Microbiology*, vol. 25, pp. 607-610, 2017/08/01/ 2017.
- [17] C. Haro, S. Garcia-Carpintero, J. F. Alcalá-Díaz, F. Gomez-Delgado, J. Delgado-Lista, P. Perez-Martinez, et al., "The gut microbial community in metabolic syndrome patients is modified by diet," *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 27, pp. 27-31, 2016/01/01/ 2016.
- [18] G. Tomasello, M. Mazzola, A. Leone, E. Sinagra, G. Zummo, F. Farina, et al., "Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases," *Biomedical papers*, vol. 160, pp. 461-466, 2016// 2016.
- [19] F. J. Verdam, S. Fuentes, C. de Jonge, E. G. Zoetendal, R. Erbil, J. W. Greve, et al., "Human intestinal microbiota composition is associated with local and systemic inflammation in obesity," *Obesity*, vol. 21, pp. E607-E615, 2013.
- [20] H. J. Flint, "The impact of nutrition on the human microbiome," *Nutrition Reviews*, vol. 70, pp. S10-S13, 2012.
- [21] K. Korpela, H. J. Flint, A. M. Johnstone, J. Lappi, K. Poutanen, E. Dewulf, et al., "Gut Microbiota Signatures Predict Host and Microbiota Responses to Dietary Interventions in Obese Individuals," *PLoS ONE*, vol. 9, p. e90702, 03/06 10/01/received 01/23/accepted 2014.
- [22] J. Doré and H. Blottière, "The influence of diet on the gut microbiota and its consequences for health," *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 32, pp. 195-199, 2015/04/01/ 2015.
- [23] G. D. Wu, J. Chen, C. Hoffmann, K. Bittinger, Y.-Y. Chen, S. A. Keilbaugh, et al., "Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes," *Science (New York, N.y.)*, vol. 334, pp. 105-108, 09/01 2011.
- [24] J. J. Faith, N. P. McNulty, F. E. Rey, and J. I. Gordon, "Predicting a human gut microbiota's response to diet in gnotobiotic mice," *Science (New York, N.y.)*, vol. 333, pp. 101-104, 05/19 2011.
- [25] R. Kübeck, C. Bonet-Ripoll, C. Hoffmann, A. Walker, V. M. Müller, V. L. Schüppel, et al., "Dietary fat and gut microbiota interactions determine diet-induced obesity in mice," *Molecular Metabolism*, vol. 5, pp. 1162-1174, 2016/12/01/ 2016.
- [26] M. A. Hildebrandt, C. Hoffman, S. A. Sherrill-Mix, S. A. Keilbaugh, M. Hamady, Y.-Y. Chen, et al., "High fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity," *Gastroenterology*, vol. 137, pp. 1716-24.e1-2, 08/23 2009.
- [27] J. Alcock and H. Lin, "Fatty acids from diet and microbiota regulate energy metabolism [version 1; referees: 2 approved]" vol. 4, 2015.
- [28] J. R. Mujico, G. C. Baccan, A. Gheorghe, L. E. Díaz, and A. Marcos, "Changes in gut microbiota due to supplemented fatty acids in diet-induced obese mice," *British Journal of Nutrition*, vol. 110, pp. 711-720, 2013.
- [29] S. Ghosh, E. Molcan, D. DeCoffe, C. Dai, and D. L. Gibson, "Diets rich in n-6 PUFA induce intestinal microbial dysbiosis in aged mice," *British Journal of Nutrition*, vol. 110, pp. 515-523, 2013.

- [30] E. Huang, V. Leone, S. Devkota, Y. Wang, M. Brady, and E. Chang, "Composition of dietary fat source shapes gut microbiota architecture and alters host inflammatory mediators in mouse adipose tissue," *JPEN- Journal of parenteral and enteral nutrition*, vol. 37, p. 10.1177/0148607113486931, Nov-Dec 05/02 2013.
- [31] B. Ojo, G. D. El-Rassi, M. E. Payton, P. Perkins-Veazie, S. Clarke, B. J. Smith, et al., "Mango Supplementation Modulates Gut Microbial Dysbiosis and Short-Chain Fatty Acid Production Independent of Body Weight Reduction in C57BL/6 Mice Fed a High-Fat Diet," *J Nutr*, vol. 146, pp. 1483-91, Aug 2016.
- [32] T. K. Thorning, A. Raben, N. T. Bendsen, H. H. Jørgensen, P. Kiilerich, Y. Ardö, et al., "Importance of the fat content within the cheese-matrix for blood lipid profile, faecal fat excretion, and gut microbiome in growing pigs," *International Dairy Journal*, vol. 61, pp. 67-75, 2016/10/01/ 2016.
- [33] S. Ghosh, D. DeCoffe, K. Brown, E. Rajendiran, M. Estaki, C. Dai, et al., "Fish oil attenuates omega-6 polyunsaturated fatty acid-induced dysbiosis and infectious colitis but impairs LPS dephosphorylation activity causing sepsis," *PLoS ONE*, vol. 8, p. e55468, 02/06 09/03/received 12/23/accepted 2013.
- [34] D. A. Kieffer, B. D. Piccolo, M. L. Marco, E. B. Kim, M. L. Goodson, M. J. Keenan, et al., "Obese Mice Fed a Diet Supplemented with Enzyme-Treated Wheat Bran Display Marked Shifts in the Liver Metabolome Concurrent with Altered Gut Bacteria," *J Nutr*, vol. 146, pp. 2445-2460, Dec 2016.
- [35] A. J. Holmes, Y. V. Chew, F. Colakoglu, J. B. Cliff, E. Klaassens, M. N. Read, et al., "Diet-microbiome interactions in health are controlled by intestinal nitrogen source constraints," *Cell Metabolism*, vol. 25, pp. 140-151, 1/10/ 2017.