



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE  
ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO  
POLITÉCNICO NACIONAL**

**UNIDAD ZACATENCO**

**DEPARTAMENTO DE GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR**

**“Seguimiento de la Variabilidad de la Microbiota Intestinal  
durante un Tratamiento con Dieta Cetogénica para Control  
de Peso en Pacientes con Obesidad y Diabetes tipo 2”**

**T E S I S**

Que presenta

**L. N. CYNTHIA ARACELY LÓPEZ TORRES**

Para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**EN LA ESPECIALIDAD DE  
GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR**

Director de la Tesis:

Dr. en C. Jaime García Mena.

**Ciudad de México**

**Agosto 2016**

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Referencia y Apoyo para la Caracterización de Genomas, Transcriptomas y Microbiomas del Departamento de Genética y Biología Molecular, bajo la dirección del Dr. en C. Jaime García Mena en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Zacatenco y en colaboración con el Dr. Víctor Armando Martínez Silva, Dra. Virginia Samaniego Méndez y la Dra Arlen Martínez Alvarado.



Se extiende un agradecimiento al CINVESTAV, al Biól. Alberto Piña Escobedo, por su apoyo técnico, a Rodrigo García Gutiérrez por su asistencia en el material de trabajo, al Dr. Selvasankar Muruesan y M.C. Otoniel Maya Lucas por sus contribuciones a lo largo del proyecto.

Para la realización de este trabajo se recibió apoyo del Cinvestav, CONACyT 163235 INFR-2011-01 y FONSEC SS/IMSS/ISSSTE-CONACYT-233361.

L.N. Cynthia Aracely López Torres recibió el apoyo de la beca CONACYT 339410.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer al Dr. en C. Jaime García Mena por haberme aceptado en su laboratorio y por su valiosa contribución en el desarrollo del proyecto. A todos mis compañeros de laboratorio, sobre todo al Dr. Selvasankar Murugesan y al M.C Otoniel Maya Lucas por su entera disposición y apoyo en el desarrollo del proyecto, así como a mis asesores Dr. Efraín Garrido Guerrero y Dr. Roberto Ruíz Medrano siempre atentos a mis necesidades.

A mis compañeros y amigos de generación que en conjunto nos apoyamos para cumplir esta meta.

A mis compañeras y amigas: Dra. Rosa Ma. Pineda, IBT Valeria Díaz Sabillón, IBT Daniela Ramírez Sánchez, Med. Cir. Janet Pineda por su apoyo y sobre todo su amistad.

Al personal administrativo del departamento de Genética y Biología Molecular, especialmente a Gabriela García Mora por su importante labor administrativa de la coordinación académica y su siempre amable atención.

Un especial agradecimiento a la Dra. Virginia Samaniego Méndez, Dr. Armando Martínez Silva y Dra. Arlen Martínez Alvarado por su contribución al desarrollo del proyecto, sin ellos esto no habría sido posible.

Al M.C. Francisco Armendáriz Toledano por todas sus asesorías.

A Dios, mi familia, mis padres, pareja y amigos por su apoyo siempre incondicional.

¡A todos muchas gracias!

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	¡Error! Marcador no definido.
<b>NOTACIÓN</b> .....	<b>ix</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>x</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xi</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>Obesidad</b> .....	<b>1</b>
Epidemiología. ....	1
Definición y clasificación.....	4
Consecuencias de la obesidad en la salud. ....	6
Diabetes tipo 2.....	8
Factores que contribuyen al desarrollo de obesidad. ....	10
Microbiota intestinal.....	12
Alternativas terapéuticas en obesidad. ....	14
Dieta cetogénica.....	16
<b>II. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>18</b>
<b>III. ALCANCE</b> .....	<b>18</b>
<b>IV. HIPÓTESIS</b> .....	<b>19</b>
<b>V. OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>19</b>
<b>VI. OBJETIVOS PARTICULARES</b> .....	<b>19</b>
<b>VII. METODOLOGÍA</b> .....	<b>20</b>
<b>VII. 1 PLAN DE TRABAJO</b> .....	<b>20</b>
<b>VII. 2 DISEÑO EXPERIMENTAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
<b>Selección de pacientes</b> .....	<b>22</b>
Instauración aleatoria de un tipo de régimen: cetogénico o mediterráneo .....	24
<b>Obtención y análisis de variables antropométricas y bioquímicas</b> .....	<b>28</b>
<b>Recolección de muestras de copro</b> .....	<b>30</b>
<b>Caracterización de la microbiota bacteriana intestinal a partir de las muestras de copro</b> .....	<b>31</b>
Secuenciación masiva semiconductora de iones.....	34
Análisis de datos de secuenciación y diversidad microbiana.....	35
Relación entre Variables Antropométricas y Bioquímicas vs. Diversidad .....	37
<b>VIII. RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
<b>Perfil Clínico de Pacientes Sometidos a Dieta Cetogénica</b> .....	<b>38</b>
<b>Perfil Clínico de Pacientes Sometidos a Dieta Mediterránea</b> .....	<b>42</b>
<b>Análisis Multivariado de las variables Antropométricas y Bioquímicas</b> .....	<b>45</b>
<b>Caracterización de la Microbiota Intestinal Bacteriana a partir de las Muestras de Copro</b> .....	<b>50</b>
Generación de genotecas V3 del 16S rDNA.....	51

<b>Estructura y Diversidad de la Comunidad Bacteriana</b> .....	52
Estructura de la comunidad (alfa diversidad).....	53
Estructura de la Comunidad (beta diversidad).....	59
<b>Relación entre Variables Antropométricas y Bioquímicas vs. Diversidad Microbiana</b> .....	65
<b>IX. DISCUSIÓN</b> .....	70
<b>X. CONCLUSIONES</b> .....	77
<b>XI.PERSPECTIVAS</b> .....	78
<b>XII.BIBLIOGRAFÍA</b> .....	79
<b>XIII.ANEXOS</b> .....	83
<b>ANEXO A. Cronograma de actividades del proyecto de investigación</b> .....	83
<b>ANEXO B. Instrucciones para toma de muestra de copro</b> .....	84
<b>ANEXO C. Consentimiento informado para los pacientes</b> .....	86
<b>ANEXO D. Menús del régimen tipo cetogénico</b> .....	91
<b>ANEXO E. Ejemplos de menús hipocalóricos de 7 días para pacientes</b> .....	105
<b>ANEXO F. Listado de alimentos para elaboración de menús para pacientes asignados a dieta control</b> .....	107
<b>ANEXO G. Hoja de Diario de alimentos para pacientes</b> .....	109
<b>ANEXO H. Concentraciones de DNA genómico de muestras de pacientes de dieta mediterránea</b> .....	110
<b>ANEXO I. Concentraciones de DNA genómico de muestras de pacientes de dieta cetogénica</b> .....	112
<b>ANEXO J. Lista de primers con barcodes utilizados para secuenciación masiva</b> .....	113
<b>ANEXO K. Asignación de barcodes por muestra</b> .....	114
<b>ANEXO L. Geles de agarosa con productos de PCR para secuenciación de muestras</b> .....	117
<b>ANEXO M. Tabla 1. Distribución taxonómica a partir de los datos de secuenciación para la dieta cetogénica</b> .....	120
Asignaciones taxonómica de las secuencias analizadas para la dieta cetogénica.....	120
<b>ANEXO N. Tabla 2. Distribución taxonómica a partir de los datos de secuenciación para la dieta mediterránea</b> .....	130
<b>ANEXO O. Tabla 3. Géneros bacterianos (79) encontrados antes de iniciar la dieta cetogénica (tiempo 0) y ausentes a su término (tiempo 3/ semana 9)</b> .....	139
<b>ANEXO P. Tabla 4. Géneros bacterianos (84) encontrados al término de la dieta cetogénica (tiempo 3/semana9) y ausentes antes de la intervención</b> .....	140
<b>ANEXO Q. Tabla 5. Géneros bacterianos encontrados exclusivamente en el grupo de dieta cetogénica (130)</b> .....	141
<b>ANEXO R. Tabla 6. Géneros bacterianos encontrados exclusivamente en el grupo de dieta mediterránea (51)</b> .....	142
<b>ANEXO S. Tabla 7. Géneros bacterianos presentes al término de la dieta cetogénica (semana 9) (116)</b> .....	143
<b>ANEXO T. Tabla 8. Géneros bacterianos presentes al término de la dieta mediterránea (semana 9) (26)</b> .....	144
<b>ANEXO U. Tabla 9. Géneros presentes durante ambas dietas en todos los tiempos analizados (12)</b> .....	144

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Distribución porcentual de la obesidad a nivel mundial. ....	2
Figura 2 Distribución del estado nutricional de hombres y mujeres de México de 20 años o más de acuerdo a IMC. ....	3
Figura 3. Sobrepeso y obesidad en México por región, localidad y nivel socioeconómico. ....	4
Figura 4 Tipos de distribución de la grasa corporal. ....	7
Figura 5 Diagrama general de trabajo.....	21
Figura 6 Estrategia de recolección de muestras. ....	30
Figura 7 Estrategia de secuenciación en base a la región hipervariable V3. ....	33
Figura 8 Diagrama general del proceso de aseguramiento de la calidad y acondicionamiento de las genotecas. ....	35
Figura 9 Gráfica de pérdida de grasa respecto a la masa muscular durante la dieta cetogénica.....	39
Figura 10 Análisis de componentes principales basado en las variables antropométricas de los pacientes del grupo de dieta cetogénica.....	46
Figura 11 Análisis de componentes principales basado en las variables bioquímicas de los pacientes del grupo de dieta cetogénica. ....	46
Figura 12 Diagramas de caja de las variables que más contribuyeron a diferenciar a los grupos en los ACPs. ....	47
Figura 13 Análisis de componentes principales basado en las variables antropométricas de los pacientes del grupo de dieta mediterránea. ....	48
Figura 14 Análisis de componentes principales basado en las variables bioquímicas de los pacientes del grupo de dieta mediterránea.....	48
Figura 15 DNA genómico extraído de diferentes muestras de copro. ....	50
Figura 16 Geles de agarosa con productos de amplificación de PCR diagnóstica y con Barcodes.....	51
Figura 17 Geles preparativos para secuenciación.....	52
Figura 18 Abundancias relativas a nivel phylum. ....	54
Figura 19 Descriptores de diversidad.....	56
Figura 20 Abundancias relativas a nivel género por semana para la dieta cetogénica.....	57
Figura 21 Abundancias relativas a nivel de género por semana para la dieta mediterránea. ....	58
Figura 22 Análisis de coordenadas principales basado en las matrices de ausencia/presencia de las comunidades microbianas. ....	60
Figura 23 Análisis de componentes principales basado en las matrices de abundancia de las comunidades microbianas de los pacientes de dieta cetogénica.....	62
Figura 24 Análisis de componentes principales basado en las matrices de abundancia de las comunidades microbianas de los pacientes de dieta mediterránea. ....	63

<b>Figura 25</b> Análisis de coordinadas principales basado en las matrices de ausencia/presencia de las comunidades microbianas de los pacientes de dieta cetogénica y mediterránea al término de la dieta. ....	<b>64</b>
<b>Figura 26</b> Análisis de correspondencias canónicas basado en los perfiles antropométricos y bioquímicos del grupo de dieta cetogénica. ....	<b>67</b>
<b>Figura 27</b> Análisis de correspondencias canónicas basado en los perfiles antropométricos y bioquímicos del grupo de dieta mediterránea. ....	<b>69</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1. Clasificación de sobrepeso y obesidad en adultos de acuerdo a IMC según parámetros de la OMS.....</b>	<b>5</b>
<b>Tabla 2 Condiciones de amplificación y primers utilizados en PCR diagnóstica. ....</b>	<b>32</b>
<b>Tabla 3 Condiciones de amplificación para PCR con primer V3 341 F y V3 518 R con Barcode.....</b>	<b>34</b>
<b>Tabla 4 Promedio de variables antropométricas y bioquímicas de pacientes sometidos a dieta cetogénica. ....</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 5 Promedio de variables antropométricas y bioquímicas de pacientes sometidos a dieta mediterránea.....</b>	<b>44</b>



## NOTACIÓN

OMS	Organización Mundial de la Salud
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
IMC	Índice de masa corporal
Kcal	kilocalorias
HDL	Lipoproteína de alta densidad
LDL	Lipoproteína de baja densidad
TGL	Triglicéridos
DHL	Deshidrogenasa Láctica
FA	Fosfatasa Alcalina
GGT	Gamma glutamil transaminasa
TGO	Aspartato aminotransferasa
TGP	Alanina aminotransferasa
BT	Bilirrubina total
BD	Bilirrubina directa
BI	Bilirrubina indirecta
ACP	Análisis de componentes principales
ACoP	Análisis de coordenadas principales
ACC	Análisis de correspondencias canónicas
pb	Pares de bases (nucleótidas)
UV	Luz ultra violeta

## RESUMEN

Uno de los grandes problemas de salud con relevancia a nivel mundial es la obesidad. Representa uno de los factores etiológicos más importantes para un gran número de enfermedades como la diabetes, considerándose una de las principales causas de muerte en el mundo. Aun existiendo alternativas terapéuticas para el tratamiento de la obesidad y sus comorbilidades, no se ha logrado abatir este padecimiento, probablemente porque siguen sin conocerse todos los factores que convergen en generarlo. La microbiota intestinal consiste en un conjunto de microorganismos que habitan normalmente el tracto gastrointestinal y que guardan una relación simbiótica con su hospedero, y ha sido asociada recientemente con la generación de obesidad. Poco se conoce sobre los microorganismos que favorecen este padecimiento, se cree que con modificaciones en la dieta se cambien los perfiles bacterianos promotores de la obesidad. El objetivo del trabajo consistió en caracterizar los cambios en los perfiles bacterianos de pacientes con obesidad y diabetes tipo 2 antes, durante y después de un tratamiento con dieta cetogénica. Se estudió la microbiota intestinal de pacientes con obesidad y diabetes tipo 2 antes, durante y después de haber sido sometidos a dos tipos de dieta: cetogénica y mediterránea; se evaluaron parámetros antropométricos y bioquímicos. Se realizaron análisis de la región bacteriana hipervariable V3 del gen ribosomal 16S mediante secuenciación masiva. Se analizaron las microbiotas de un total de 14 pacientes: 9 tratados con una dieta cetogénica y 5 con una mediterránea por 9 semanas. La microbiota intestinal de pacientes con obesidad y diabetes tipo 2 se modifica por efecto del tratamiento con régimen cetogénico y se asocia a una marcada disminución de los parámetros antropométricos evaluados. Este perfil bacteriano puede ser menos favorecedor de la obesidad representando una considerable alternativa terapéutica con mejoras en la calidad de vida para el paciente.

## **ABSTRACT**

Obesity represents one of the most important health problems worldwide, being a relevant predisposing factor to a big number of diseases such as diabetes, considered as an important cause of death. Even existing many therapeutic alternatives for obesity control and its comorbidities, it still remains being an issue, maybe due to the incomplete knowledge about all factors that contributes to cause it. Gut microbiota is a group of microorganisms that inhabits the intestinal tract and have a symbiotic relationship with its host. Recently has been associated with obesity etiology. Little is known about the microorganisms that promotes it. It is believed that diet modifications can change the obesity-promoting microbiota. The aim of this work was to characterize changes in microbiota of obese patients with type 2 diabetes before, during and after a ketogenic diet. A mediterranean and a ketogenic diet were given to two different group of patients; anthropometric and biochemical parameters were analysed. Bacterial genomic DNA were used to create libraries using V3 hypervariable region of ribosomal 16S rDNA by PCR. Ion semiconductor sequencing was performed and data were analyzed using QIIME. Gut bacterial microbiota of 14 patients were analyzed: 9 treated with a ketogenic diet and 5 with a mediterranean diet during 9 weeks. The gut bacterial microbiota of obese patients with type 2 diabetes is modified by the ketogenic diet and is associated with an important reduction in anthropometric parameters. This bacterial profile could be less promoter of an obese fenotype representing an efficient therapeutic alternative to improve quality life of this patients.

## **I. INTRODUCCIÓN**

En la actualidad la sociedad atraviesa por momentos en los que los avances en tecnología y mejoras en los servicios sanitarios no han logrado socavar el número de muertes humanas al año. Los mismos avances condicionan en ocasiones el nacimiento o incremento de enfermedades, de las cuales destacan la obesidad y la diabetes, enfermedades que generan un gran número de pérdidas humanas al año o repercuten en la calidad de vida de quienes las padecen. Conocer todos los factores implicados en estos padecimientos resultan de importancia para un mejor entendimiento de su fisiopatología y etiología para con ello lograr acertados métodos de prevención y mejoras de los tratamientos que favorezcan la calidad de vida de las personas afectadas.

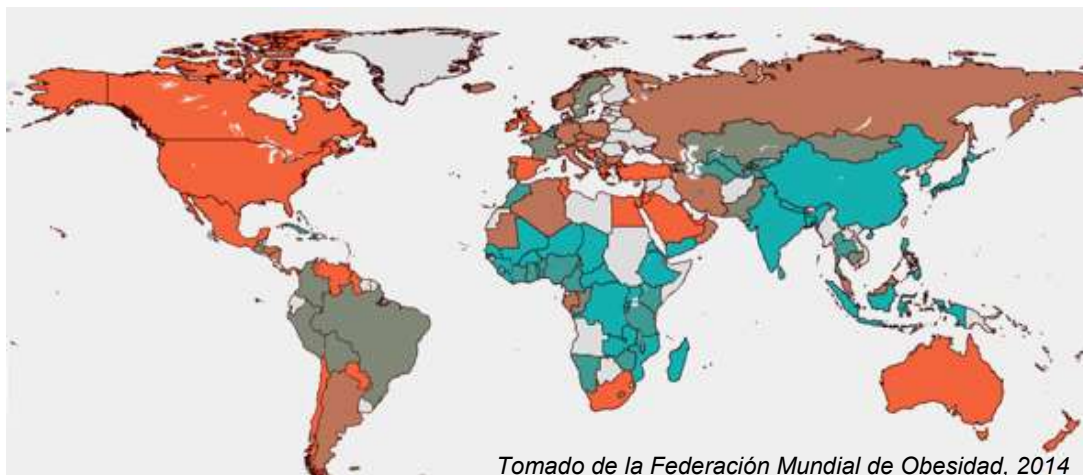
### **Obesidad**

#### **Epidemiología.**

En la actualidad la obesidad representa uno de los principales problemas de salud pública, debido al gran número de personas que mueren al año dado a sus complicaciones, mientras que los que la padecen ven afectada su calidad de vida. Datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) refieren que en el 2014 el 39% de la población mundial por encima de los 18 años tenía sobrepeso y el 13% obesidad, afectando casi equitativamente tanto a hombres como mujeres. La prevalencia mundial de la obesidad se ha duplicado a más del doble desde 1980. Su importancia radica en el hecho de que genera múltiples consecuencias a la salud significando un factor de riesgo para enfermedades no transmisibles de tipo cardiovasculares (mismas que representaron en el 2012 la principal causa de defunción); trastornos del aparato locomotor; algunos cánceres así como diabetes. Lo que pondera

a la obesidad como un padecimiento altamente riesgoso (Organización Mundial de la Salud (OMS), 2015).

El sobrepeso y la obesidad son problemas de salud que afectan tanto a países desarrollados como en vías de desarrollo de bajo y mediano ingreso. Representando en estos últimos una doble carga de enfermedades, ya que en ellos todavía se lidia con problemas de enfermedades infecciosas y desnutrición, más ahora se encuentran enfrentando el surgimiento de enfermedades no transmisibles y todas sus comorbilidades implicadas, siendo México uno de los países en vías de desarrollo que posee de los porcentajes más altos para población con sobrepeso y obesidad (Organización Mundial de la Salud (OMS), 2015; World Health Organization (WHO), 2000).



**Porcentaje de adultos con obesidad (%)**

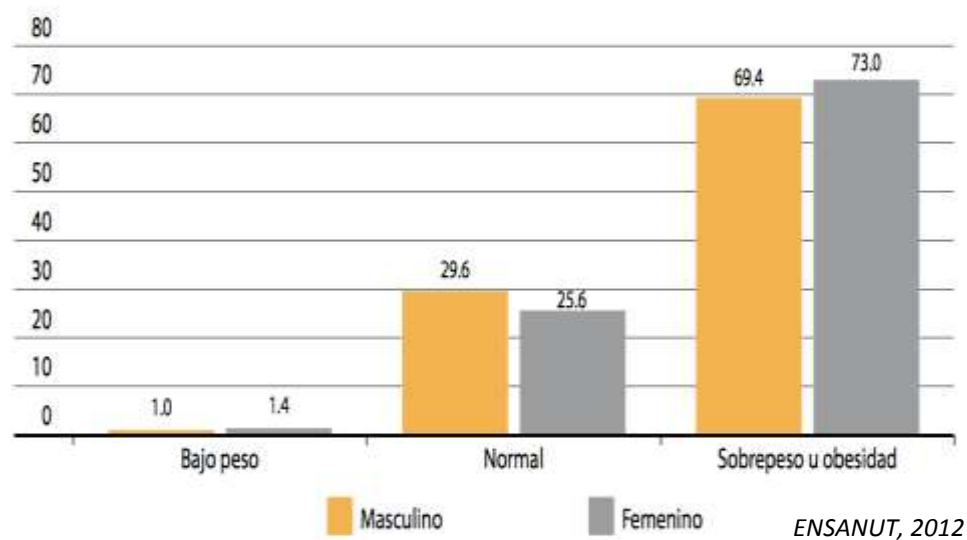


**Figura 1 Distribución porcentual de la obesidad a nivel mundial.**

El mapa muestra los porcentajes de adultos con obesidad respecto a su distribución geográfica (World Obesity Federation, 2014).

De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2012 la prevalencia de sobrepeso y obesidad en adultos es de 71.28% que representa 48.6 millones de mexicanos, correspondiendo 32.4% para obesidad y 38.8% para sobrepeso, observándose mayor porcentaje de

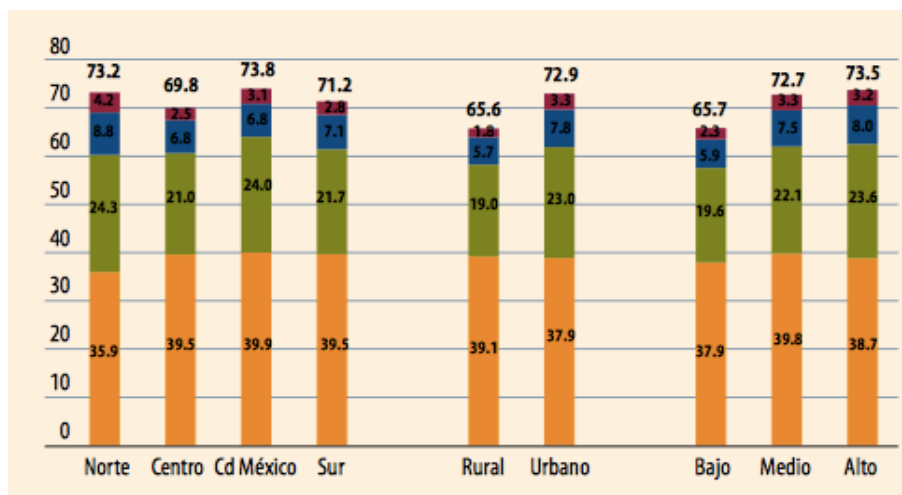
obesidad en las mujeres (37.5%) y mayor sobrepeso en hombres (42.5%). La prevalencia más alta en mujeres se observa en edades que van desde los 50 a 59 años mientras que para los hombres de 40 a 49 años. Un punto importante a observar es el hecho de que existe sobrepeso y obesidad tanto en zonas rurales como urbanas, siendo éstas últimas donde su prevalencia es ligeramente más alta mostrando evidencia que habla acerca de que el nivel socioeconómico no es una limitante para desarrollar dichos estados (Barquera & Dommarco;, 2012).



**Figura 2 Distribución del estado nutricional de hombres y mujeres de México de 20 años o más de acuerdo a IMC.**

La figura resume cifras proporcionadas por la ENSANUT en la encuesta del 2012, que muestran una mayor proporción de personas con sobrepeso y obesidad frente a personas con peso normal en base al IMC (Barquera & Dommarco;, 2012).

Sectorizando al país en regiones geográficas la ENSANUT muestra que la región norte del país presenta menor prevalencia de sobrepeso no así en el caso de obesidad, para la cual representa la zona con mayor porcentajes de obesidad en comparación con el sur y centro de México (Barquera & Dommarco;, 2012).



**Figura 3. Sobrepeso y obesidad en México por región, localidad y nivel socioeconómico.**

La figura muestra la prevalencia de sobrepeso y obesidad de acuerdo a diferentes zonas del país, con mayor incidencia de sobrepeso en el centro del país pero mayor obesidad en el norte; así como por tipo de población según las características poblacionales de ruralidad, urbanidad y nivel socioeconómico (Barquera & Dommarco, 2012).

### **Definición y clasificación.**

La obesidad puede ser definida como una condición en la que existe una acumulación excesiva y anormal de grasa en el tejido adiposo, de tal forma que la salud se ve perjudicada. Para determinar que un individuo adulto posee obesidad, parámetros como el peso y la estatura se utilizan para calcular una cifra conocida como Índice de Masa Corporal (IMC). Este índice categoriza a las personas como normales cuando se encuentran en el rango de 18.5-24.9 kg/m<sup>2</sup>, sobrepeso 25-29.9 kg/m<sup>2</sup>, obeso clase I de 30-34.5 kg/m<sup>2</sup>, obeso clase II de 35-39.9 kg/m<sup>2</sup> y obeso clase III por encima de 40 kg/m<sup>2</sup> (Chan & Woo, 2010). El IMC no discrimina entre el peso asociado a músculo o grasa por lo que el IMC y el porcentaje de grasa corporal varían entre las composiciones físicas de las personas y no debe considerarse

como exclusivo para clasificar el estado nutricional de un individuo sino como un predictor.

**Tabla 1. Clasificación de sobrepeso y obesidad en adultos de acuerdo a IMC según parámetros de la OMS.**

<b>Clasificación de sobrepeso y obesidad en adultos de acuerdo a IMC</b>		
<b>Clasificación</b>	<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>Riesgo de comorbilidades</b>
<b>Bajo peso</b>	<18.5	Bajo
<b>Rango normal</b>	18.5–24.9	Promedio
<b>Sobrepeso</b>	25.0–29.9	incrementado
<b>Obeso clase I</b>	30.0–34.9	Moderado
<b>Obeso clase II</b>	35.0–39.9	Severo
<b>Obeso clase III</b>	≥40	Muy severo

*Adaptado de los puntos de corte establecidos por la OMS.*

El acúmulo de grasa intra-abdominal, también conocida como grasa central o visceral, es la que más se relaciona con producir las complicaciones de la obesidad, por eso otras alternativas de mediciones antropométricas son sugeridas además del IMC que tomen en cuenta este tipo de almacenamiento lipídico, tales como índice cintura cadera y circunferencia de cintura, sin embargo no existe un acuerdo acerca de qué índice deba utilizarse universalmente para definir obesidad dado a las variaciones étnicas que existen. Pero algunos parámetros son utilizados para determinar el riesgo en la salud con respecto a la circunferencia de cintura como el poseer una medida más allá de 88 cm para las mujeres o 102 cm para hombres (Rojas-Martínez, Aguilar-Salinas, & Jiménez-Corona, 2012). La razón cintura-cadera utilizado como predictor de riesgo en salud es de >1 para mujeres y >0.85 para hombres cifra obtenida a partir del cociente de la circunferencia de cintura entre la circunferencia de la cadera (Chan & Woo, 2010).



Dado a la falta de estandarización y diversidades étnicas la OMS recomienda que se empleen los puntos de corte establecidos para el IMC anteriormente mencionados como predictor del estado nutricional (Chan & Woo, 2010).

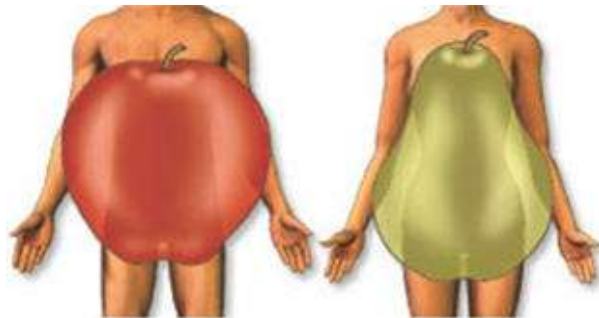
### **Consecuencias de la obesidad en la salud.**

Las repercusiones metabólicas que genera la obesidad están influenciadas no solo por el tipo de almacenaje de la grasa: hiperplasia (aumento del número de células adiposas) o hipertrofia (crecimiento del adipocito por almacenaje de lípidos), sino también por la distribución corporal de este almacenamiento. El acúmulo de grasa en el tejido adiposo se puede dividir a grandes rasgos en dos categorías, el visceral que representa el 20% del total de la grasa del cuerpo y el subcutáneo el 80%. Estos dos depósitos difieren en su capacidad de producir moléculas bioactivas y en el control de procesos relacionados con el metabolismo de lípidos (Bays *et al.*, 2008).

La diferente distribución corporal de la grasa en relación al género puede explicarse parcialmente por efectos hormonales, con distribución mayormente visceral para los hombres (fenotipo “androide”) y subcutánea para las mujeres (“ginecoide”) (Fig. 4), entendiéndose como distribución visceral aquella que se presenta en tronco y en la periferia de los órganos, siendo ésta la que posee mayor grado de actividad metabólica; y subcutánea aquella que se deposita mayormente en las extremidades, cadera y muslos. Cabe destacar que si bien el fenotipo ginecoide se observa comúnmente más en las mujeres no significa que este tipo de distribución sea exclusiva del sexo femenino y viceversa con el fenotipo androide (Bays *et al.*, 2008).

El tejido adiposo además de funcionar como reservorio del exceso de energía consumida posee efectos de órgano endócrino, involucrándose activamente con procesos metabólicos: adipogénesis, angiogénesis,

lipogénesis, producción de factor de crecimiento, metabolismo de glucosa y lípidos, producción hormonal y enzimática, respuesta inmune, producción de hormonas, entre otros. Por ende, modificaciones en la cantidad de este tipo de tejido determinará una disminución o incremento en la actividad de estos procesos.



**Figura 4 Tipos de distribución de la grasa corporal.**

La distribución androide o “de manzana” denota aquella que se acumula alrededor de la cintura. El tipo ginecoide o “en forma de pera” se distribuye en caderas y miembros superiores e inferiores.

Numerosos estudios han aludido la relación existente entre la grasa abdominal y el riesgo de padecer ciertas enfermedades, lográndose asociar a la obesidad a alrededor de 18 comorbilidades (Guh *et al.*, 2009). Los problemas de salud fuertemente asociados, según su riesgo relativo, son enfermedades cardiovasculares que se reflejan como hipertensión, dislipidemia y anormalidades cardíacas. Además evidencias científicas indican que el sobrepeso y la obesidad incrementan el riesgo de cáncer por encima del riesgo conferido para las enfermedades cardiovasculares. Los tipos de cáncer mayormente asociados a la obesidad son los de esófago, páncreas, colon, recto, mama, endometrio y riñón (Guh *et al.*, 2009; Malnick & Knobler, 2006; National Institute of Health (NHLBI), 2012).

El exceso de peso también se ha asociado al desarrollo de enfermedades respiratorias, enfermedades de riñón, desórdenes musculoesqueléticos, hepáticos y gastrointestinales así como inclusive problemas psicológicos. De todas las comorbilidades a las que se asocia la

obesidad, la diabetes tipo 2 posee la asociación más fuerte de todas (Guh *et al.*, 2009; Malnick & Knobler, 2006).

### **Diabetes tipo 2.**

Un elevado IMC y circunferencia de cintura han sido asociados a una alta incidencia de diabetes tipo 2 tanto en hombres como mujeres (Guh *et al.*, 2009) estimándose que para el año 2030 represente la séptima causa de muerte en el mundo, ya causando en el 2012 un estimado de 1.5 millones de muertes principalmente en países de bajo y mediano ingreso (World Health Organization (WHO), 2010).

Cabe definir este padecimiento como un desorden metabólico caracterizado por una normal o insuficiente producción de insulina, por las células  $\beta$  del páncreas, la cual no ejerce su función como facilitador en el transporte de glucosa hacia el interior de las células debido a un daño en el receptor celular para la insulina existiendo resistencia sistémica a la misma (Hameed *et al.*, 2015). Esta resistencia lleva a una disminución en el transporte de la glucosa hacia el interior celular impidiendo obtener energía a partir de la misma, generándose un aumento en el metabolismo de grasas para compensar esta necesidad energética con existencia de hiperglucemia sanguínea; esta alta concentración de glucosa que permanece en sangre genera alteraciones en la función de muchos órganos promoviendo un estado de estrés sistémico (Olokoba, Obateru, & Olokoba, 2012).

Se han descrito algunos mecanismos a partir de los cuales la obesidad promueve el desarrollo de diabetes entre los que se pueden resumir i) la existencia de un estado de inflamación crónica leve debido al aumento en la producción de adipocinas/citocinas (ej. resistina, TNF  $\alpha$ , proteína de unión a retinol 4 RBP4) promovido por el crecimiento del tejido adiposo a nivel central, lo cual contribuye a la resistencia a la insulina así

como a la disminución en los niveles de adiponectina; ii) depósitos de grasa ectópica, esto es, en los órganos o su periferia, más grave cuando se presenta en el hígado lo que a su vez favorece al estado de inflamación de bajo grado; iii) disfunción mitocondrial, evidenciado por una disminución en el tamaño y actividad de las mitocondrias (Eckel *et al.*, 2011).

La pérdida de función de las células  $\beta$  del páncreas nace a partir de la resistencia a la insulina sistémica promovida por la obesidad, que obligan al páncreas a secretar mayor cantidad de la misma, de forma que cumpla su función a nivel celular (hiperinsulinemia). Los factores que pueden predisponer a que las células  $\beta$  pierdan su función son de índole genética o epigenética lo que vuelve a ciertos individuos a ser más susceptibles a padecerla. Un vínculo potencial entre la obesidad y la diabetes tipo 2 se relaciona con una permanente exposición celular a nutrimentos que exceden las necesidades energéticas. Estos excesos ejercen efectos deletorios sobre las células como por ejemplo activando vías de señalización de inflamación de forma exacerbada o disfuncional, estrés del retículo endoplásmico, producción excesiva de especies reactivas de oxígeno, acumulación de triglicéridos u otros intermediarios. Todos estos efectos pueden presentarse a la par generando una cascada de daño (Hotamisligil & Erbay, 2008).

Este daño celular ocasionado por la obesidad puede activar macrófagos y otras células inmunitarias que empeoran la inflamación tisular, situación que agrava la resistencia a la insulina en el hígado, músculo y tejido adiposo, lo cual se traduce a empeorar la situación de exceso de nutrimentos con aumentos de glucosa y ácidos grasos libres, de esta forma se genera un círculo vicioso de daño, donde este exceso de nutrimentos inducidos por la obesidad, desencadenan respuestas inflamatorias que causan resistencia a la insulina, demandando mayor actividad a la célula  $\beta$ , la cual reiteradamente se ve forzada a incrementar su actividad (Weisberg *et al.*, 2003).

## **Factores que contribuyen al desarrollo de obesidad.**

Las causas que generan obesidad involucran un proceso de interacción entre varios factores de riesgo, referido como etiología multifactorial; es una combinación de un perfil genético predisponente, hormonas y diferentes factores sociales y ambientales tales como un estilo de vida sedentario y hábitos alimenticios insanos. Uno de los factores ampliamente conocidos por promover la obesidad es la transición de la alimentación; transición desarrollada como resultado de la urbanización, produciendo un cambio en los micro patrones de alimentación de la población a nivel mundial.

Una de las razones que pudo favorecer la transición alimentaria se debe a que a finales del siglo XIX e inicios del XX los países en desarrollo se encontraban experimentando tiempos de pobreza, malnutrición y enfermedades, condiciones que generaban baja productividad en las industrias, por ello se comenzó un proceso de suplementación energética a ciertos alimentos. La adición de azúcares y grasas mejoraba el crecimiento en los niños, lo que se traducía en un estado nutricional favorable para la productividad industrial (Caballero, 2007). Para una mejora en la productividad económica de los países era necesario garantizar un buen estado de salud de la clase trabajadora lo que generó buscar incrementar la disponibilidad de energía mediante la dieta. De ahí el nacimiento de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) que tuvo por objetivo principal incrementar la disponibilidad de fuentes calóricas de bajo costo (Blacker, 1936; Caballero, 2007).

Conforme avanzaron los años, los avances tecnológicos comenzaron a hacerse más frecuentes, creándose mejoras en las condiciones de vida y trabajo, automatizándose y mecanizándose muchos procesos, lo que implicó un menor gasto de energía para la realización de actividades diarias. Es entonces cuando comienza a ocurrir uno de los principales eventos que

condicionan la ganancia de peso: el desbalance entre la energía que se ingiere por medio de los alimentos y la energía que se gasta. Un balance positivo de energía se traduce como un acúmulo de grasa que da pauta al inicio de la obesidad. La ingesta calórica diaria incrementada es uno de los principales promotores de la epidemia de obesidad mundial, promovido por un alto consumo de refrescos azucarados y alimentos densamente energéticos de fácil acceso que usurpan el consumo de alimentos vegetales (Caballero, 2007).

La urbanización además trajo consigo un estilo de vida sedentario que promueve el uso de vehículos, restringe áreas para caminar, genera lugares inseguros así como la continua necesidad de trabajar disminuye la posibilidad de las personas para realizar actividades físicas aunado a una ingesta de alimentos densamente calóricos da como resultado un desbalance entre la energía consumida y la gastada (Chan & Woo, 2010). La fácil accesibilidad a alimentos baratos y densos en energía en conjunto con el estilo de vida con baja actividad física así como la publicidad alimentaria a la que estamos expuestos día a día han sido de los factores preponderantes para el desarrollo de obesidad en la población en general sin discriminar estratos sociales, ya que el costo de los productos considerados chatarra es más bajo que el de cualquier alimento considerado como sano, poniéndolos al alcance de todo público convirtiéndose en la primera opción de compra para muchos (Chan & Woo, 2010; Food Research and Action Center (FRAC), 2010).

Los genes son otro factor promotor asociado al incremento de grasa corporal, los cuales, juntos con el entorno crean una “interacción gen-ambiente” refiriéndose a una situación en la que la respuesta o adaptación a un agente ambiental, un comportamiento o cambio en éste es condicional en el genotipo de un individuo (Hainerova, 2010; Stein, Mroch, De Berg, & Flanagan, 2011). Los genes para una persona responden de manera distinta

a como lo hacen los de otra frente al mismo ambiente. Una de las formas en las que la susceptibilidad genética influye es condicionando una baja tasa metabólica en reposo, baja tasa de oxidación de lípidos, poca cantidad de masa magra y pobre control del apetito (Stein *et al.*, 2011; World Health Organization (WHO), 2000). Sin embargo el factor genético sólo es responsable de explicar el 5% del padecimiento de obesidad y el 15% para la diabetes (Eckel *et al.*, 2011).

Existe un diverso abanico de factores promotores de obesidad ampliamente conocidos, avances en la ciencia y mayores investigaciones en el área han permitido dilucidar un nuevo factor que se suma a esta causa, conocido como microbiota intestinal.

### **Microbiota intestinal**

La microbiota intestinal consiste en un conjunto de microorganismos que habitan normalmente el tracto gastrointestinal y que guardan una relación simbiótica con su huésped, pero que tienen la capacidad de promover un estado patológico bajo circunstancias que condicionan cambios en los perfiles microbianos. Ciertas costumbres alimenticias tienen el potencial de regular el perfil bacteriano que comunmente coloniza el intestino, subsistiendo sólo las bacterias que son capaces de perdurar ante una exposición recurrente a los nutrimentos que se vuelven más comunes en el colon, como resultado de los hábitos alimenticios (Hawrelak & Myers, 2004). Dependiendo de los grupos de alimentos mayormente consumidos por una persona los conjuntos de poblaciones microbianas intestinales tienden a variar, propiciando asociar los tipos de bacterias existentes en el intestino con determinados patrones alimenticios así como con diferentes estados de salud (Hawrelak & Myers, 2004).

Desde el nacimiento el tracto gastrointestinal comienza a ser colonizado por un gran número de microorganismos a los que inicialmente somos expuestos en el canal de parto, capaces de habitarlo sin producir repercusiones al hospedador. De estos microorganismos el 97% son anaerobios estrictos (Cardinelli, Sala, Alves, Torrinhas, & Waitzberg, 2015) y aunque se han descrito alrededor de 50 *phyla* bacterianos, el tracto gastrointestinal está dominado solo por dos: *Firmicutes* (64%) y *Bacteroidetes* (23%). *Proteobacterias* (8%), *Actinobacterias* (3%), *Verrucomicrobia*, *Fusobacterias* y *Cyanobacterias* (2%) están presentes en menor cantidad (Cardinelli *et al.*, 2015; Eckburg *et al.*, 2005; Sekirov, Russell, Antunes, & Finlay, 2010).

La presencia de microorganismos en el intestino no es un fenómeno aislado, sino que tiene funciones importantes en la salud del hospedador ejerciendo roles como inmunomodulador, estimulando al sistema inmune para que madure y ejerza sus funciones, así como protección, controlando la población bacteriana para que las especies patógenas no proliferen; además posee un efecto sobre la función y estructura intestinal promoviendo la síntesis de sustancias estimuladoras de la peristalsis, y favoreciendo la absorción de energía de la materia fecal mediante la síntesis de ácidos grasos de cadena corta, sintetizados a partir de la fermentación de carbohidratos de difícil digestión de los cuales normalmente escasa energía sería capaz de ser absorbida, este evento permite que los alimentos puedan ser eficientemente aprovechados por el organismo (Sekirov *et al.*, 2010).

Recientes investigaciones han dilucidado el hecho de que un perfil microbiológico en el que un aumento del *phylum Firmicutes*, con una concomitante disminución del *phylum Bacteroidetes*, se ha asociado a un fenotipo de sobrepeso y obesidad en contraste con una población en peso normal (DiBaise *et al.*, 2008); un cambio en los perfiles de microorganismos presentes en el intestino de un individuo, conocido como disbiosis, es



posiblemente un condicionante para el padecimiento de dichos estados. El hecho de que determinadas especies microbianas tengan capacidad fermentativa sobre la materia aun aprovechable que permanece en las heces después de la digestión, estaría confiriendo la facultad de seguir absorbiendo energía, así como favoreciendo su almacenamiento, posiblemente como grasa. De este hecho se alude que un incremento en la ingestión de ciertos alimentos promueve activamente a desarrollar obesidad (DiBaise *et al.*, 2008; Sekirov *et al.*, 2010).

### **Alternativas terapéuticas en obesidad.**

El tratamiento del sobrepeso y obesidad de forma inicial se hace mediante la instauración de un régimen dietético especial, individualizado para el paciente, en el que se realiza una restricción calórica importante que va disminuyendo paulatinamente en contenido calórico para evitar una descompensación, hasta lograr alcanzar un régimen hipocalórico, esto es, una dieta en la que el individuo obeso ingiera menos calorías de las que debe consumir en el día de acuerdo a su peso, de forma que se estimule el uso de los depósitos grasos del cuerpo; en suma a un esquema de actividad física cuando es factible, lo que estimula mayor gasto de energía que lleve a un balance energético negativo, traducido en pérdida de peso.

Algunos esquemas nutricionales a los que se les han atribuido mejoras en la calidad de vida concomitantemente a la pérdida de peso, como ejemplo la disminución del riesgo cardiovascular, es la considerada dieta tipo mediterránea, que consiste en la adopción de hábitos de alimentación tradicionalmente seguidos en al menos 16 países que rodean el mar Mediterráneo, caracterizado por un alto consumo de aceite de oliva, frutas, vegetales, cereales no refinados, patatas, leguminosas y oleaginosas; aunado a una moderada ingestión de pescados, mariscos y pollo y un bajo consumo de carnes rojas o alimentos cárnicos procesados. El vino tinto es

otra de las características distintivas de este tipo de dieta, el cual es permitido en compañía de alimentos (Yang, Farioli, Korre, & Kales, 2014).

En ocasiones los regímenes dietéticos con perfiles de macronutrientes considerados “normales” , esto es, 55% de carbohidratos, 15% de proteínas y 30% de grasas respecto al total de calorías para un individuo al día; inclusive siendo hipocalóricos no obtienen resultados muy favorables en la pérdida de peso, sumado al hecho de que las ocupaciones laborales de muchas personas no permiten dedicar tiempo suficiente a la actividad física diaria. En miras a esto, diversos esquemas nutricionales se han implementado con el objetivo de lograr mejores resultados en pérdida de peso sin perturbar la salud del individuo y que además estas pérdidas se mantengan a lo largo del tiempo (Hite, Berkowitz, & Berkowitz, 2011; Turk *et al.*, 2009). La búsqueda de perder peso es sumamente relevante ya que cuando se logran importantes pérdidas se observa una mejora respecto a las comorbilidades tales como la diabetes mellitus tipo 2 (Turk *et al.*, 2009).

El esquema comúnmente seguido para la pérdida de peso es el que consiste en disminuir la cantidad de alimentos grasos de la dieta, en contraparte a esto y en defensa de que los carbohidratos son los promotores de la diabetes y síndrome metabólico, también se han implementado regímenes en los que los carbohidratos son los que suelen disminuirse observándose mejoras en marcadores de riesgo cardiovascular y pérdida de peso comparado al régimen bajo en grasa (Hite *et al.*, 2011). Una dieta baja en carbohidratos puede traducirse en diversos esquemas que modifican su contenido: 1) Dieta baja en carbohidratos: comprende la ingesta de entre 30-130 gramos de carbohidratos al día y 2) dieta cetogénica muy baja en carbohidratos: ingesta de <30 gramos de carbohidratos al día, favoreciendo un estado de cetosis (Hite *et al.*, 2011).

## **Dieta cetogénica.**

Una dieta cetogénica es aquella en la que el contenido de carbohidratos permitidos diariamente no sobrepasan el 15% del total de la energía requerida por un individuo, incrementándose los porcentajes de proteína y lípidos en la dieta. Este régimen normalmente se implementa durante períodos de tiempo cortos que no van más allá de un mes, sin embargo diversos estudios han dilucidado la carencia de efectos adversos en mantener este esquema por encima de este tiempo con el fin de mejorar marcadores de riesgo cardiovascular (Dashti *et al.*, 2004).

Este tipo de dietas inducen a los pacientes a cetosis, el cual, es un estado fisiológico que ocurre como resultado de un cambio en el tipo de combustible energético utilizado por el organismo. Una dieta cetogénica mantiene al cuerpo en un estado de cetosis caracterizado por una elevación de metabolitos como acetato, hidroxibutirato y acetoacetato en sangre, resultado de la oxidación hepática de ácidos grasos provenientes de las reservas energéticas del tejido adiposo. Es un fenómeno que ocurre de forma natural durante procesos de ayuno o post-ejercicio como un mecanismo que evita la hipoglucemia (Dashti *et al.*, 2004).

Diversos estudios aluden los beneficios del régimen cetogénico sobre marcadores de riesgo cardiovascular, pronunciada pérdida de peso en pacientes obesos, así como disminución en la intolerancia a la glucosa con disminución en la necesidad de utilizar fármacos. Aunado a esto se relaciona además con la supresión del apetito (Dashti *et al.*, 2004; Hite *et al.*, 2011). Este último efecto se logra más fácilmente cuando se incrementan la cantidad de proteína provista en la dieta. Una vez que el paciente cumple un período estricto de dieta baja en carbohidratos, es capaz por sí mismo de mantener un ingesta energética baja cuando no se les implementa una restricción calórica, en comparación con quienes logran concluir un régimen

bajo en grasas. Lo anterior favorece el mantenimiento del peso alcanzado al concluir la dieta (Hite *et al.*, 2011; Johnstone, Horgan, Murison, Bremner, & Lobley, 2008).

## **II. JUSTIFICACIÓN**

Uno de los problemas de salud que atañen mundialmente es la obesidad. Representa uno de los factores etiológicos más importante para un gran número de enfermedades, siendo una de las principales causas de muerte en el mundo. Mucho se sabe y ha estudiado alrededor de este tópico, sin embargo las cifras no parecen mejorar en favor de la salud. Aun existiendo alternativas terapéuticas para el tratamiento de la obesidad y sus comorbilidades no se ha logrado abatir este padecimiento, probablemente porque siguen sin conocerse todos los factores que convergen en generarlo. La reciente asociación entre obesidad y microbiota intestinal resulta en un nuevo campo de exploración para disminuir o tratar este padecimiento. Además de desarrollar estrategias de prevención para la obesidad desde la infancia, es de suma importancia mejorar los métodos de tratamiento de este padecimiento con la intención de mejorar la calidad de vida de las personas afectadas. De esta forma se justifica la importancia de conocer el impacto de una dieta cetogénica sobre el perfil microbiano intestinal que permita ayudar a dilucidar el perfil microbiológico promotor de la obesidad, lo cual, podría acercarnos más a implementar un tratamiento más idóneo para pacientes con obesidad y diabetes tipo 2 que proporcione mejoras en la calidad de vida de los mismos.

## **III. ALCANCE**

En consideración al tiempo con el que se dispuso para la realización del proyecto, la infraestructura y el número de muestras que eran factibles obtener, se intentó dar seguimiento de la variabilidad de la microbiota intestinal de 20 pacientes con obesidad y diabetes mellitus tipo 2 que fueron sometidos a dos diferentes esquemas nutricionales para bajar de peso: 10 a un régimen dietético tipo cetogénico y 10 a un régimen hipocalórico estilo mediterráneo.

#### **IV. HIPÓTESIS**

El perfil de la microbiota intestinal de pacientes con obesidad y diabetes tipo 2 se modifica por efecto de una dieta tipo cetogénica, simultáneo a la reducción de peso y mejoramiento de parámetros clínicos; este perfil microbiano modificado se mantiene al restablecerse una alimentación convencional junto con las mejoras en los parámetros clínicos.

#### **V. OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar los cambios en los perfiles bacterianos de pacientes con obesidad y diabetes tipo 2 antes , durante y después de un tratamiento con dieta cetogénica.

#### **VI. OBJETIVOS PARTICULARES**

**Objetivo Particular 1.** Seleccionar y caracterizar pacientes candidato que acuden a consulta al Hospital MIG para tratamiento de obesidad.

**Objetivo Particular 2.** Realizar el estudio de la diversidad de la microbiota intestinal de los individuos participantes.

**Objetivo particular 3.** Realizar el análisis de datos.

## VII. METODOLOGÍA

### VII. 1 PLAN DE TRABAJO

#### FASE I

**Actividad 1a.** Selección de pacientes de acuerdo a diversos criterios  
(**Objetivo Particular 1**).

**Actividad 1b.** Instauración aleatoria de un tipo de régimen: cetogénico o mediterráneo (**Objetivo Particular 1**).

**Actividad 1c.** Recolección de muestras de copro de los pacientes (**Objetivo particular 1**).

#### FASE II

**Actividad 2a.** Caracterización metagenómica de la microbiota intestinal a partir de las muestras de copro (**Objetivo particular 2**).

a) Extracción de copro-DNA

b) Generación de genotecas V3 del 16S rDNA.  
en paralelo .

c) Secuenciación masiva semiconductor de iones.

#### FASE III

**Actividad 3a.** Análisis de datos de secuenciación (**Objetivo Particular 3**).

**Actividad 3b.** Análisis de datos clínicos (**Objetivo Particular 3**).

## VII. 2 DISEÑO EXPERIMENTAL Y MÉTODOS

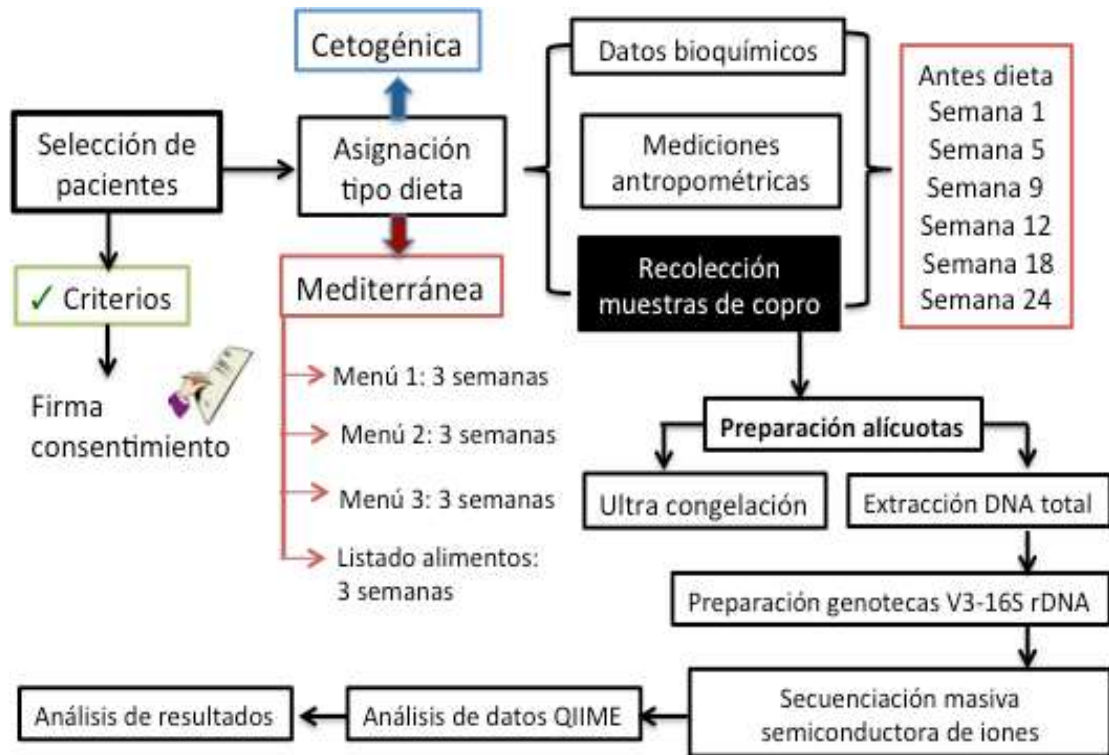


Figura 5 Diagrama general de trabajo.



## **Selección de pacientes**

Se seleccionaron pacientes que asistieron a consulta para control de peso al Hospital de Especialidades MIG Lindavista de la Ciudad de México. Durante la primera visita, se le informó al paciente acerca del protocolo para solicitar su deseo en participar; una vez que aceptaron, se explicaron los criterios de inclusión y exclusión, se realizó una historia clínica completa, cuestionario de frecuencia de alimentos con la finalidad de evaluar los hábitos de ingesta alimenticia, somatometría y análisis clínicos. Una vez revisados los análisis de laboratorio se determinó si cumplían con los criterios de inclusión, y se confirmó la posibilidad de participar en el estudio. Se solicitó al paciente firmar un consentimiento informado de participación en el protocolo que va de acuerdo a la declaración de Helsinki revisado en el 2000 y que ha sido aprobado por el Comité de Ética del hospital y se asignó un tratamiento dietético de forma aleatoria (**Objetivo Particular 1**).

Los criterios considerados para la selección de pacientes fueron los siguientes:

### **Criterios de inclusión:**

- Diabetes tipo 2  $\leq 5$  años de evolución
- I.M.C.  $\geq 27 \leq 32$
- Edad  $\geq 25$  y  $\leq 65$  años
- Un máximo de tres medicamentos utilizados para el control de la diabetes
- Aceptar seguir un programa de alimentación indicado por el lapso de un año.
- Consentimiento informado leído, entendido y firmado por el paciente aceptando participar en el protocolo.

### **Criterios de exclusión:**

- Mujeres en edad fértil que se encuentren utilizando anticonceptivos en un lapso menos de un año.

- Antecedentes de hospitalización por descontrol metabólico en el último mes.
- Antecedentes de hospitalización por eventos cardiovasculares el último mes.
- Pacientes con descontrol hipertensivo y/o que hayan ameritado hospitalización en los últimos tres meses.
- Antecedentes de cambios sustanciales en el régimen de dieta en los últimos tres meses.
- Uso de laxantes, antiparasitarios y/o tratamientos antimicrobianos en los últimos tres meses
- Cirugía bariátrica
- Resección intestinal por cualquier causa
- Síndrome de malabsorción
- Uso de medicamentos para bajar de peso
- Uso de acarbosa
- Haber ingresado a un programa de actividad física intensa en el último mes
- Antecedente de cáncer en los últimos cinco años
- Encontrarse bajo tratamiento oncológico
- Antecedentes de enfermedad hepática o renal severa
- Pacientes psiquiátricos

### **Criterios de eliminación**

- Hemoglobina glicada  $\leq 6$
- Glucemia en ayunas  $\leq 140$  mg/dl
- Depuración de creatinina  $<40\%$
- Parámetros de laboratorio de seguridad fuera de rango con significancia clínica
- Ausencia de cetonemia en la primera semana del estudio
- Falta de seguimiento en la dieta establecida
- Apego menos al 80% en el consumo del complemento alimenticio indicado en cualquier etapa del estudio
- Descontrol metabólico que requiera de aplicación de un esquema de tratamiento
- Retiro del consentimiento para participar en el estudio
- Aparición de eventos adversos serios incompatibles con la permanencia en el estudio
- Uso de tratamiento antibiótico durante el protocolo

Se les instruyó a los pacientes sobre la toma de muestras de copro proporcionando un instructivo para facilitar el procedimiento, así como los frascos y palitas necesarios para ello. Las muestras fueron llevadas en las siguientes visitas programadas por el médico.

Se reclutaron un total de 17 pacientes de los cuales 11 fueron asignados aleatoriamente al grupo de dieta cetogénica y 6 al de dieta mediterránea. A lo largo del protocolo fueron eliminados 3 pacientes debido a medicación antibiótica, desapego al tratamiento e inasistencia a las citas programadas por lo que ambos grupos disminuyeron su número a 9 y 5 pacientes respectivamente (Objetivo Particular 1).

Análisis bioquímicos, antropométricos y una muestra de heces se solicitaron antes de iniciar cualquiera de los tratamientos.

### **Instauración aleatoria de un tipo de régimen: cetogénico o mediterráneo**

Los pacientes fueron seleccionados de forma azarosa para la asignación del tipo de régimen nutricional que se les implementó. Se seleccionaron 11 individuos para el esquema cetogénico y 6 para el hipocalórico estilo mediterráneo (Objetivo particular 1).

Régimen cetogénico.

Al paciente se le explicó el régimen, que consistió en un esquema nutricional de 9 semanas en las que se le proveyó de hojas con los alimentos permitidos para cada uno de los tiempos de alimentación: Desayuno, Colación matutina, Comida, Colación vespertina y Cena. Se proporcionaron paquetes con sobres de alimentos que fueron preparados de acuerdo a las instrucciones provistas en los mismos (PRONUTRITION® H&NLAB). Estos alimentos preparados en sobres comprenden **Cárnicos** (tortitas de camarón pollo, machacao pescado); **Salados** (Omelletes, pan provenzal); **Repostería**

(Mousse de coco, natillas, arroz con leche, pasteles) y **Bebidas** (frappés cafés, aguas de sabor y chocolate); todos los alimentos se distribuyeron para su consumo durante el día de acuerdo al menú por el cual fueron evolucionando los pacientes, además de ser acompañados por otros grupos de alimentos grasos y vegetales permitidos. La distribución de estos alimentos permite cumplir con el objetivo de generar un estado de cetosis dentro de las primeras dos semanas de iniciar el régimen.

El régimen cetogénico consistió de tres distintos esquemas de tres semanas cada uno; cada esquema mantuvo una relación de macronutrientes de 77% proteínas, 10% lípidos y 13% carbohidratos. El primer menú comprendió una ingesta de entre 700-800 kcal a partir del cual se instauró la cetosis inicial; el segundo régimen con duración de tres semanas fue de 900-1000 kcal capaz de mantener una cetosis intermedia y la cetosis avanzada comprendió la ingesta de entre 1000-1100 kcal durante el mismo período de tiempo. Debido al estricto sometimiento al régimen que se debió cumplir y a la restricción de ciertos grupos de alimentos, estos menús fueron acompañados de diferentes multivitamínicos saborizados que se ingirieron disueltos en agua conforme al menú por el cual se fue progresando. El estado de cetosis que debió conseguirse para continuar con el protocolo fue de por lo menos  $\geq 0.6$  mmol/L de cuerpos cetónicos en sangre.

Una vez concluido el período de nueve semanas de dieta cetogénica comenzó un período de transición hacia una alimentación convencional en la que se proveyeron tres diferentes menús, cada uno a llevarse a cabo durante un período de dos semanas, en las cuales comenzaron a introducirse paulatinamente grupos de alimentos como frutas y cereales, consecutivamente se introdujeron leguminosas y en las últimas dos semanas los demás alimentos grasos antes no permitidos en el régimen. Cada transición alimentaria incrementó la ingesta calórica hasta alcanzar una

ingesta final de 1600 kcal, régimen con el cual se mantuvieron ya a los pacientes, considerándose algunas adecuaciones para cada uno de ellos.

Dieta hipocalórica tipo mediterránea.

Los pacientes asignados con dieta mediterránea se derivaron con la Licenciada en nutrición Cynthia A. López Torres (cédula 8599804) para adecuarles un régimen alimenticio pertinente a su padecimiento y actividades diarias. Se les proporcionaron menús hipocalóricos de 7 días considerando gustos, preferencias, alergias y actividad física, los cuales, repitieron durante tres semanas. Posterior a este tiempo los pacientes se citaron de nuevo para reasignación de menús hipocalóricos para el siguiente periodo de tres semanas; esto ocurrió así durante 3 meses. En las siguientes 3 semanas a los pacientes se les permitió armar sus propios menús en base a un listado de alimentos que la nutrióloga les asignó con la consigna de elaborar un diario de alimentos que debían llenar conforme fueran pasando los días (Anexos E, F, G). Una vez terminados los períodos de intervención nutricional estrictos (12 semanas) se dejó a los pacientes sin ningún tipo de régimen establecido, solo con determinadas recomendaciones generales que debían considerar al momento de escoger sus alimentos, de forma que se reintegraran a sus hábitos normales de alimentación pero tomando en consideración aspectos aprendidos sobre los alimentos a lo largo del tratamientos.

El esquema de alimentación mediterráneo contempló alimentos de consumo común en países del continente europeo mismos a los que se les han atribuido beneficios a la salud y a determinados estados patológicos. El régimen se estableció calculando las calorías necesarias para cada paciente considerando la edad, peso y talla utilizando la fórmula de gasto energético de Harris-Benedict, con adecuación de 10% de gasto energético debido a actividad física y 10% por efecto termogénico de los alimentos y con restricción calórica del 10% conforme fueron evolucionando. Se consideró

una distribución de macronutrientes de 55% de carbohidratos, 15% de proteínas y 30% de grasas, con la facultad de ingerir una medida de vino tinto (100 ml) al día acompañado de la comida. Los menús estuvieron acompañados de algunas recetas básicas para facilitar la preparación de los mismos. Una vez finalizado este lapso de tiempo se implementó un esquema de selección de comidas a voluntad, en el que al paciente se le permitió escoger, a partir de un listado de grupos de alimentos, los que él deseara, siendo capaz de armar sus propios menús de acuerdo a un modelo preestablecido de alimentos permitidos para cada paciente.

## **Obtención y análisis de variables antropométricas y bioquímicas**

**Obtención de datos.** Para evaluar el estado de salud de los pacientes durante los dos tratamientos dietéticos, se tomaron y analizaron nueve mediciones antropométricas y 20 bioquímicas de cada paciente en siete tiempos a lo largo del estudio (t0= antes de empezar la dieta, t1= a siete días del inicio, t5= a las cinco semanas, t9= a las nueve semanas, “al término”, t12= tres semanas después de haber concluído la dieta, t18= nueve semanas después de haber terminado la dieta y t24= tres meses y medio después de la dieta). Las variables antropométricas consideradas fueron: peso (kg), IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), masa grasa (kg), masa muscular (kg), grasa visceral (kg), circunferencia de cintura (cm), metabolismo basal (kcal) presión sistólica y diastólica (mmHg) las cuales se obtuvieron utilizando el equipo de impedancia bioeléctrica de ocho puntos mBCA 514 de Seca® y la presión sanguínea empleando un baumanómetro electrónico. Las variables bioquímicas consideradas fueron: glucosa en ayuno (mg/dL), glucosa al azar (mg/dL), hemoglobina (Hb) (g/dL), creatinina (mg/dL), ácido úrico (mg/dL), colesterol (mg/dL), HDL (mg/dL), LDL (mg/L), triglicéridos (TGL, mg/dL), proteínas totales (g/dL), albúmina (g/dL), globulina (g/dL), DHL (U/L), FA (U/L), GGT (U/L), TGO (U/L), TGP (U/L), BT (mg/dL), BD (mg/dL) y BI (mg/dL) y cetonemia para los pacientes sometidos a dieta cetogénica. La glucosa al azar y las cetonas en sangre se cuantificaron utilizando un glucómetro FreeStyle Optium (Abbott Laboratories, S.A.). El resto de las variables bioquímicas se realizaron en el laboratorio clínico de referencia ELI S.A. de C.V. de la Ciudad de México. Las variables bioquímicas se consideraron debido a que a partir de ellas se puede sugerir el estado o funcionamiento general del cuerpo, del hígado y riñón, que permitan determinar si se presentan mejoras o repercusiones a la salud del paciente.

Con los conjuntos de variables de los pacientes de ambas dietas (cetogénica n=9 y mediterránea n=5), para los siete tiempos, se contruyeron

dos matrices de datos, una con los valores antropométricos y otra con los bioquímicos; las cuales representan el fenotipo y el perfil bioquímico (“estado de salud”) de los pacientes a lo largo del estudio.

**Análisis estadísticos.** Para conocer la naturaleza de la distribución de las variables antropométricas y bioquímicas se evaluó el supuesto de normalidad de dichas distribuciones mediante la prueba de Shapiro-Wilk, apropiada para tamaños de muestras pequeñas utilizando el programa PAST ver. 3.2.

**Análisis univariado.** El comportamiento de las variables antropométricas y bioquímicas se estudiaron por medio del cálculo de los estadísticos básicos descriptivos (media, varianza, desviación estándar) y diagramas de caja. Las comparaciones de dichas variables se realizaron entre los tiempos dentro de una dieta y entre los tiempos de las dos dietas. Para evaluar diferencias en estas comparaciones se utilizó la prueba de ANOVA o Kruskal-Wallis, según la naturaleza de las variables, paramétrica o no paramétrica. En los casos en los que se encontraron diferencias significativas se realizaron pruebas de comparaciones múltiples de medias, con la prueba de Tukey para determinar cuál o cuales era(n) la(s) significativamente diferente(s).

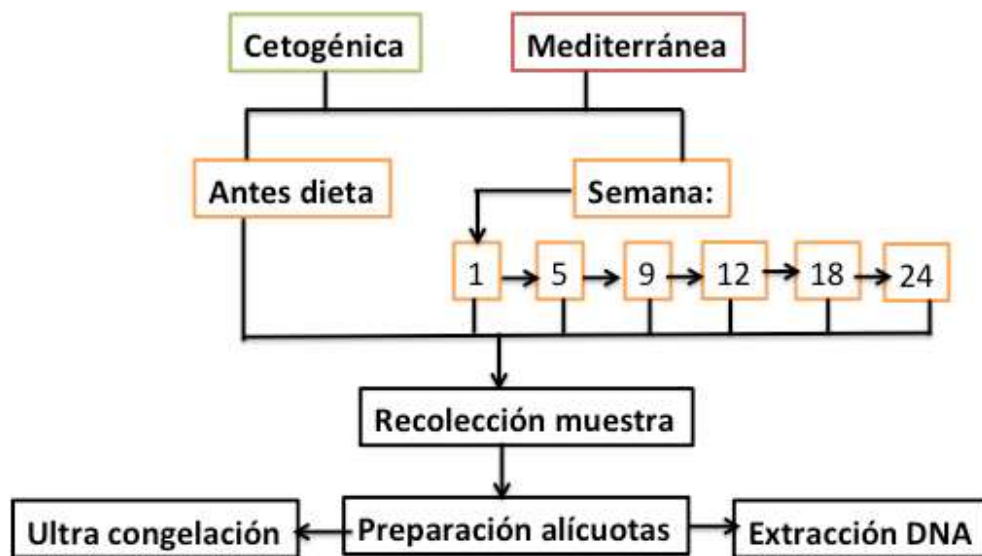
**Análisis multivariado.** Con el objetivo de evaluar si los tratamientos dietéticos modelan el fenotipo y el perfil bioquímico de los pacientes, para cada dieta se realizaron análisis de componentes principales (ACPs) para conocer si las variables estudiadas en conjunto permitían recuperar grupos de pacientes de acuerdo al tipo de dieta y a los tiempos de las mismas. El ACP se realizó por medio de una matriz de correlaciones pareadas, la representación del espacio multidimensional de las variables estudiadas se proyectó con los primeros dos eigenvectores, que son los que contribuyen a explicar el mayor porcentaje de la variación total. Para las variables antropométricas estos análisis se realizaron comparando los tiempos 0, 3 y 24 mientras que para las variables bioquímicas los tiempos 0 y 24; estos



tiempos se seleccionaron para evaluar puntualmente la intervención dietética ya que la semana 0 corresponde a los pacientes antes de iniciar, la semana 9 al terminar el régimen y la semana 24 tres meses y medio después de concluir la dieta, esto con la finalidad de observar si se presentaba reversión en los parámetros clínicos tiempo después de concluir la dieta (Objetivo Particular 3).

### Recolección de muestras de copro

Periódicamente se recolectaron muestras de copro conforme a las citas programadas para cada paciente en el Hospital de Especialidades MIG Lindavista de la Ciudad de México. El esquema de recolección consistió en la obtención de una muestra antes de empezar cualquiera de los regímenes así como lo largo del tratamiento dietético, recogiendo muestras durante las semanas 1, 5 y 9 de tratamiento, y muestras posteriores al término del mismo las semanas 12, 18 y 24.



**Figura 6 Estrategia de recolección de muestras.**

La primera muestra de heces se colectó antes de iniciar cualquiera de los tratamientos dietéticos, posteriormente las muestras de copro se recolectaron durante la semana 1, 5, 9, 18 y 24 post-tratamiento. Cada muestra se alícuotó para extracción de DNA y almacenamiento.

Las muestras fueron transportadas al Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del Politécnico (Cinvestav), alicuotadas en tubos debidamente etiquetados de 1.5 ml y almacenadas en condiciones perpetúales (-70 °C) para ser procesadas a la brevedad (Objetivo particular 1).

### **Caracterización de la microbiota bacteriana intestinal a partir de las muestras de copro**

#### **a) Extracción de copro-DNA**

Se realizó la extracción de DNA total de las muestras de heces utilizando tecnología Aquastool (MultiTarget Pharmaceuticals, LLC) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Se cuantificaron las concentraciones de DNA total y determinó la integridad del DNA por cuantificación de su coeficiente  $A_{260/280}$  usando espectrofotómetro Nanodrop LITE (Thermo Scientific) así como su calidad por fraccionamiento electroforético en geles de agarosa al 0.5% teñido con 0.70  $\mu$ l de colorante Midori Green, utilizando 5  $\mu$ l de buffer de carga de azul de bromofenol con glicerol y TBE (Tris-Borato-EDTA) como regulador de corrida, aplicando 100 Volts durante 45 minutos y observando el gel con el sistema de fotodocumentación Molecular Imager® Gel Doc™ XR Bio-Rad (Objetivo particular 2).

#### **b) Amplificación de la región V3 del gen 16S rDNA.**

Previo a la generación de las genotecas se verificó la presencia de DNA bacteriano en las muestras; se realizaron PCR (Polymerase Chain Reaction) diagnósticas para amplificar una región polimórfica V3-V4 del gen 16S rDNA utilizando un primer Forward y otro Reverse denominados CGO465 con las condiciones enunciadas en la Tabla 2, trabajando con un volumen final de reacción de 50  $\mu$ l a una concentración de 50, 20 o 10 ng de DNA dependiendo de la muestra. Como control positivo para las reacciones de

amplificación se utilizó DNA de la cepa *E. coli* SK10019 mientras que como control negativo se utilizó la mezcla de reacción pero sin DNA molde. Para las amplificaciones se usó un termociclador tipo Thermal Cycler 2720 de Applied Biosystems.

**Tabla 2 Condiciones de amplificación y primers utilizados en PCR diagnóstica.**

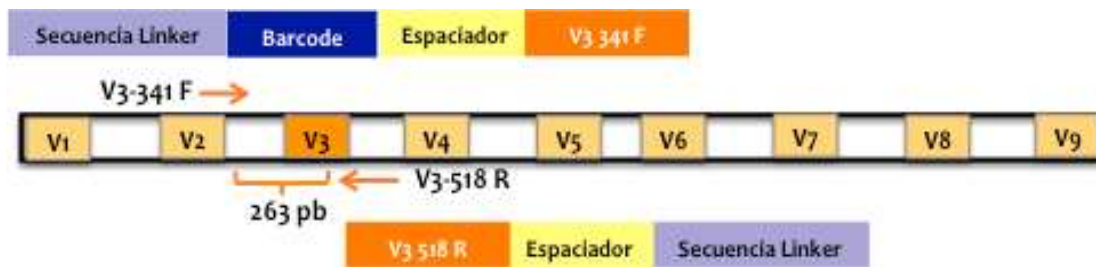
Primers:				
CGO465 Forward		CGO465 Reverse		
5'-CTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'		5'-CTACCAGGGTATCTAATCCTG - 3'		
Producto 465 pares de bases (pb)				
Programa de amplificación:	25 ciclos		Concentraciones de reactivos para 1 reacción:	
Desnaturalización inicial	95 °C	5 minutos	Buffer	1x
Desnaturalización	94 °C	30 segundos	MgCl <sub>2</sub>	2 mM
Alineamiento	55.3 °C	30 segundos	DNTPs	0.2 mM
Extensión	72 °C	30 segundos	Taq Pol	0.025 U/μl
Extensión final	72 °C	10 minutos	Primer CGO465 F	0.2 mM
	4 °C	5 minutos	Primer CGO465 R	0.2 mM

Posteriormente los productos de PCR fueron sometidos a fraccionamiento electroforético en geles de agarosa al 2% teñidos con 0.70 μl de colorante Midori Green, utilizando 5 μl de buffer de carga de azul de bromofenol con glicerol mezclado con 5 μl de producto de PCR y se usó un marcador de peso molecular de 100 pb. Buffer TBE fue empleado como solución tampón y se aplicaron 90 Volts durante 50 minutos. El gel fue visualizado con fotodocumentador (previamente descrito) en el que se apreciaron bandas con productos de amplificación de 465 pb.

### c) Preparación de genotecas de V3 del 16S rDNA

Una vez realizadas las PCR diagnósticas para cada una de las muestras y comprobando la presencia de DNA bacteriano amplificable por los primers CGO465, se crearon genotecas mediante el uso de primers especiales que

flanquean la región variable del gen ribosomal 16S. Estos primers forward contienen una secuencia identificadora (Anexo E), conocida como “Barcode”, que permite distinguir entre diferentes tipos de muestras a lo largo del proceso de la secuenciación masiva, así como poseen una secuencia nucleotídica adaptadora (“Secuencia Linker”) necesaria para la tecnología de secuenciación utilizada. Cada primer utilizado fue único para cada muestra (Fig. 7) (Objetivo Particular 2). Se hicieron reacciones de PCR con las condiciones mencionadas en la Tabla 3 utilizando primers con diferentes Barcodes para cada una de las muestras y se comprobó la calidad de los amplicones mediante fraccionamiento electroforético en geles de agarosa al 2%, como previamente se ha descrito, esperando un producto de amplificación de 281 pb.



**Figura 7 Estrategia de secuenciación en base a la región hipervariable V3.**

En la imagen se esquematiza la región variable V3 de bacterias, flanqueado por un primer Forward y un Reverse que contienen secuencias adaptadoras y de identificación para su secuenciación en ION Torrent™. Los primers generan un producto de 281 pares de bases (pb).

Una vez que se obtuvieron los productos de PCR con el tamaño esperado de 281pb se llevaron a cabo reacciones masivas de PCR de cada muestra para obtener un mayor volumen de productos de reacción, esto bajo las mismas condiciones previamente descritas. Posteriormente se mezclaron los productos masivos de PCR en concentraciones equivalentes, esto se calculó utilizando la concentración de DNA de cada producto de reacción (cuantificada como se ha descrito anteriormente) para determinar la cantidad necesaria a agregar de cada una de las muestras, esto es, aproximadamente 10 µg por muestra amplificada masivamente. Una vez

mezcladas todas las muestras se realizó una comprobación de la calidad de los amplicones mediante electroforesis en gel preparativo de agarosa al 2% y se cortó la banda correspondiente al peso esperado de 281 pb, empleando luz UV que hace visible la fluorescencia de la banda.

**Tabla 3 Condiciones de amplificación para PCR con primer V3 341 F y V3 518 R con Barcode.**

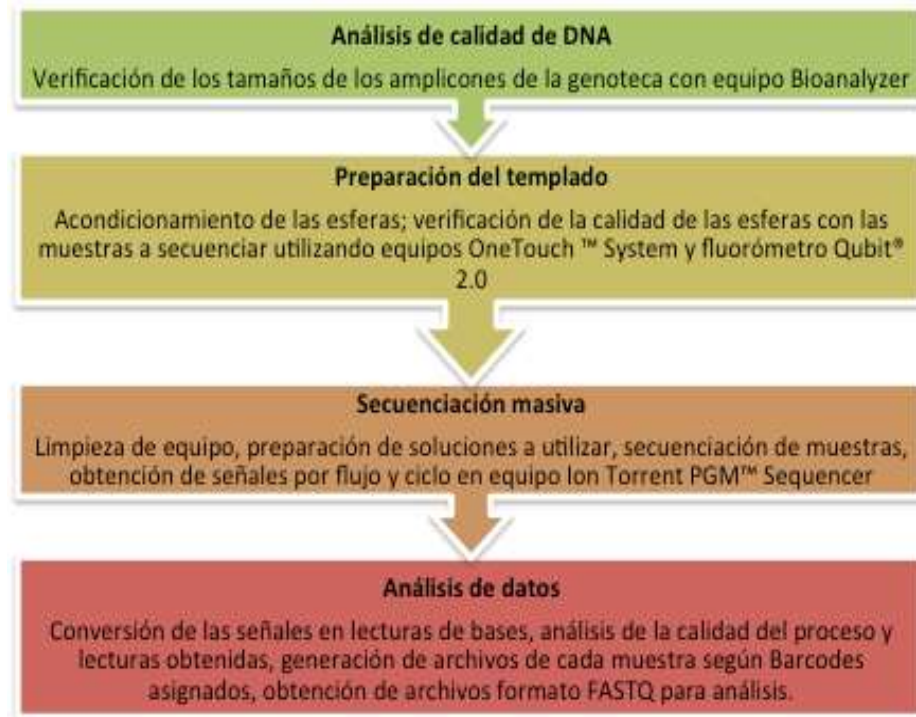
Programa de amplificación:	25 ciclos		Concentraciones de reactivos para 1 reacción:	
Desnaturalización inicial	95 °C	5 minutos	Buffer	1x
Desnaturalización	94 °C	30 segundos	MgCl <sub>2</sub>	2 mM
Alineamiento	62 °C	30 segundos	DNTPs	0.2 mM
Extensión	72 °C	30 segundos	Taq Pol	0.025 U/μl
Extensión final	72 °C	10 minutos	Primer CGO465 F	0.2 mM
	4 °C	5 minutos	Primer CGO465 R	0.2 mM

La banda del gel que contenía los productos de reacción se purificó empleando el kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System de Promega bajo las instrucciones provistas por el fabricante. Por último se realizó una electroforesis con gel analítico al 2% de agarosa para comprobar el peso del producto de purificación de 281pb junto con el producto antes de purificar; finalmente se cuantificó la concentración de DNA recuperado luego de la purificación.

### **Secuenciación masiva semiconductor de iones.**

Se hizo un análisis y acondicionamiento de cada genoteca para secuenciarse por tecnología semiconductor de iones utilizando el equipo Ion Torrent (Rothberg *et al.*, 2011) (Ion Torrent™, Life Technologies) utilizado Chip 318 (1 GB) y química para una lectura promedio de 400 pb. Una vez comprobada la calidad de la genoteca se hizo la secuenciación de la misma. Posterior a la secuenciación se hizo una depuración del archivo generado con las

secuencias de las genotecas para su análisis bioinformático en QIIME (Objetivo particular 2). El proceso general de preparación de la genoteca para su secuenciación se enuncia en la Figura 8.



**Figura 8 Diagrama general del proceso de aseguramiento de la calidad y acondicionamiento de las genotecas.**

### **Análisis de datos de secuenciación y diversidad microbiana.**

Una vez que el proceso de secuenciación concluyó se realizó un análisis bioinformático de las secuencias con la línea de procesos Qiime (Kuczynski *et al.*, 2012) (<http://qiime.org/>); se eliminaron secuencias quimeras, secuencias con longitudes menores a 150 pb y secuencias homopolímeras; se consideró como punto de corte un mínimo de 10 mil lecturas por muestra. Para hacer la asignación taxonómica de las secuencias se empleó la base de datos 16S rDNA GreenGenes (McDonald *et al.*, 2012) (<http://greengenes.lbl.gov>).

Para estudiar la estructura de las comunidades bacterianas a nivel de género, a lo largo del estudio, se construyeron matrices de abundancia y de presencia-ausencia para cada dieta, a partir de los datos de secuenciación. Estas se elaboraron a dos niveles de organización de los datos, una promediando todos los pacientes por semana (matriz 1) y otra considerando a cada paciente por separado (matriz 2).

La estructura de las comunidades en los siete tiempos fue evaluada a partir de la matriz 1 calculando los descriptores básicos de la comunidad: riqueza (número de géneros), abundancia (número de lecturas), dominancia (este índice va de 0 a 1, 0 donde los miembros de la comunidad están distribuidos equitativamente y 1 cuando un miembro domina la comunidad), índice de Simpson (1-dominancia, mide la equitatividad de una comunidad de 0 a 1) e índice de Shannon (considera el número de individuos así como el número de taxa; varía de 0 para comunidades con un solo taxón a valores mayores en comunidades con muchos taxa, cada uno con algunos individuos). Los valores de estos descriptores se representaron por medio de gráficos de dispersión.

Con el objetivo de evaluar si los tratamientos dietéticos modelan la estructura de las comunidades bacterianas de los pacientes se realizaron análisis de coordenadas principales (ACoP) y de agrupamiento para ver si la similitud de las comunidades, basada en la abundancia o ausencia-presencia de los géneros, permite recuperar grupos de acuerdo al tiempo o tipo de dietas. Para la matriz de ausencia-presencia el ACoP y el análisis de agrupamiento se realizaron por medio de una matriz de distancias pareadas, obtenida con el índice de distancia Euclídeana, mientras que para la matriz de abundancias con el índice de Gower. Para la construcción de los dendrogramas se utilizó el método de ligamiento de promedios aritméticos no ponderados (UPGMA). Estos análisis se realizaron utilizando la matriz 1.

## **Relación entre Variables Antropométricas y Bioquímicas vs. Diversidad**

Para estudiar la asociación entre los cambios en la estructura de las comunidades bacterianas a nivel de género a lo largo de los tratamientos y los cambios en los parámetros antropométricos y bioquímicos de los pacientes, se realizaron análisis de correspondencias canónicas (CCA) para relacionar tanto las variables antropométricas como las bioquímicas con los datos de abundancia y de ausencia-presencia. Para el caso de las antropométricas se utilizaron las nueve variables en los tres tiempos mientras que para las bioquímicas a partir de las 20 variables para el tiempo cero y seis. Como datos de diversidad se utilizaron las matrices de abundancias absolutas y presencia-ausencia. Los ejes canónicos que explicaron mayor porcentaje de la correlación de los datos se graficaron en dos dimensiones (gráfico de dispersión). La asociación entre variables antropométricas y bioquímicas respecto a la abundancia o la presencia-ausencia de géneros de bacterias se evaluó por medio de la proyección de vectores en el gráfico de dispersión (Objetivo Particular 3).



## VIII. RESULTADOS

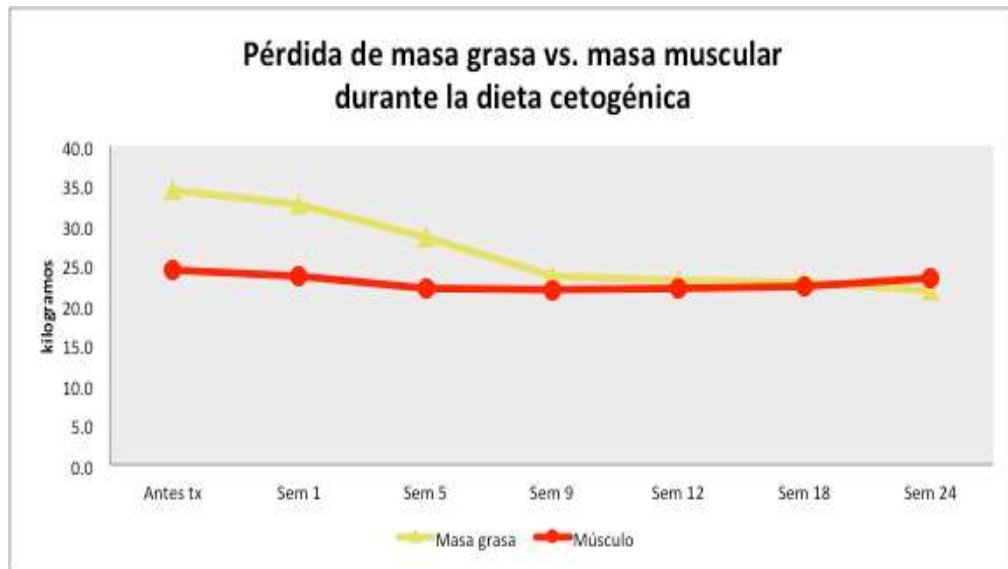
Un total de 14 pacientes terminaron completamente el tratamiento dietético, nueve de dieta cetogénica (cinco hombres, cuatro mujeres) y cinco de dieta mediterránea (tres hombres y dos mujeres) con promedio de edad de 46.9 y 48.8 años respectivamente.

### Perfil Clínico de Pacientes Sometidos a Dieta Cetogénica

Con un promedio de edad de  $46.9 \pm 11.4$  años los pacientes derivados a dieta cetogénica iniciaron con un peso de  $87.2 \pm 7.7$  kg correspondiente a un IMC de  $32.5 \pm 3.3$  kg/m<sup>2</sup> parámetro que corresponde a la clasificación de obesidad clase I. Al término de las nueve semanas de tratamiento cetogénico los pacientes lograron bajar en promedio  $13.3 \pm 5.5$  kg modificando la clasificación de los pacientes a “sobrepeso” correspondiente al IMC  $27.6 \pm 2.6$  kg/m<sup>2</sup> obtenido después de la pérdida de peso. Se observan importantes disminuciones en la glucosa en ayuno ( $\bar{x}_{\text{glucosa/ayunoT0}} = 117.4 \pm 26.8$  mg/dL;  $\bar{x}_{\text{glucosa/ayunoT3}} = 87.4 \pm 10.9$  mg/dL; H= 9.8,  $p \leq 0.01$ ) y glucosa al azar ( $\bar{x}_{\text{glucosa/azarT0}} = 134 \pm 31.7$  mg/dL;  $\bar{x}_{\text{glucosa/azarT3}} = 97.6 \pm 18.2$  mg/dL H= 8.6  $p \leq 0.05$ ) puntualizando que los fármacos hipoglucemiantes utilizados por los pacientes antes de iniciar el protocolo de dieta cetogénica (específicamente) fueron suspendidos inmediatamente al iniciar la intervención dietética. Los pacientes mantuvieron el estado de cetosis en sangre requerido durante la intervención (0.8 mmol/L) (Tabla 4).

La masa grasa total disminuyó en promedio  $10.7 \pm 2.6$  kg , de la cual  $1.97 \pm 0.7$  kg correspondió a grasa visceral. La masa muscular se mantuvo en  $22.8 \pm 1$  kg sin cambios significativos a lo largo del tratamiento ( $p \geq 0.05$ ). Dichas disminuciones en la grasa total se observan evidenciadas con la reducciones de  $14 \pm 2.7$  cm en la circunferencia de cintura de los pacientes ( $p$

≤0.01). El metabolismo en reposo, o basal, sufrió modificaciones no significativas, disminuyendo en 7.6%.



**Figura 9 Gráfica de pérdida de masa grasa respecto a la masa muscular durante la dieta cetogénica.**

Antes de finalizar el protocolo (semana 24/tiempo 6) un paciente dejó de acudir a las consultas, mientras que a otro se le prescribió antibiótico durante este mismo periodo de tiempo, por lo que sus datos antropométricos, bioquímicos y de diversidad microbiana no fueron considerados para dicho tiempo.

A tres meses y medio de la intervención dietética (semana 24/tiempo 6) algunos de los parámetros clínicos se mantuvieron muy similares respecto a los valores logrados al finalizar el tratamiento. Un ejemplo de esto es el peso, en el que no se presentaron cambios significativos respecto al peso al final del tratamiento ( $\bar{x}_{\text{pesoT3}} = 73.9 \pm 5.6$  kg,  $\bar{x}_{\text{pesoT6}} = 75.06 \pm 9.7$  kg,  $p \geq 0.05$ ), así como, es de destacar que la glucosa al azar logró mantenerse significativamente disminuida ( $\bar{x}_{\text{glucosa/azarT3}} = 97.6 \pm 18.2$  mg/dL;  $\bar{x}_{\text{glucosa/azarT6}} = 95.1 \pm 10.1$  mg/dL,  $p \geq 0.05$ ) mientras que la glucosa en ayuno, aunque aumentó, siguió estando por debajo de los parámetros normales sin el uso

de fármacos hipoglucemiantes ( $\bar{x}_{\text{glucosa/ayunoT3}} = 87.4 \pm 10.9$  mg/dL;  $\bar{x}_{\text{glucosa/ayunoT6}} = 108 \pm 16.8$  mg/dL) Las pérdidas de masa grasa y visceral se perpetuaron con el paso del tiempo ( $\bar{x}_{\text{masa grasaT3}} = 23.7 \pm 7.2$  kg;  $\bar{x}_{\text{masa grasaT6}} = 21.8 \pm 7.9$  kg;  $\bar{x}_{\text{grasa visceral T3}} = 2.6 \pm 0.77$  kg,  $\bar{x}_{\text{grasa visceral T6}} = 2.6 \pm 1.48$  kg).

Con respecto a las variables bioquímicas, no se presentaron modificaciones importantes para todas las variables estudiadas, respecto al tiempo cero, a excepción de los TGL que disminuyeron significativamente después de la dieta ( $\bar{x}_{\text{TGL T0}} = 161.8 \pm 68.6$  mg/dL;  $\bar{x}_{\text{TGL T3}} = 110.1 \pm 40.2$  mg/dL,  $H = 3.57$   $p \leq 0.05$ ) así como también las enzimas TGO y TGP indicadores de disminución de estrés hepático ( $\bar{x}_{\text{TGO T0}} = 39.3 \pm 22.2$  U/L ;  $\bar{x}_{\text{TGO T3}} = 24.6 \pm 6.8$  U/L,  $H = 2.32$   $p \leq 0.05$ ;  $\bar{x}_{\text{TGP T0}} = 49.2 \pm 28.6$  U/L;  $\bar{x}_{\text{TGP T3}} = 28.9 \pm 9.2$  U/L,  $H = 5.36$   $p \leq 0.05$ ). La BD que aunque aumentó de forma significativa, no superó los valores establecidos como normales. Exceptuando a las HDL (que estuvieron bajas según los valores de referencia), el resto de parámetros lograron disminuirse ligeramente, más no de forma estadísticamente significativa, luego de la intervención dietética coincidiendo con los rangos de valores considerados normales para dichos parámetros (Tabla 4).

**Tabla 4 Promedio de variables antropométricas y bioquímicas de pacientes sometidos a dieta cetogénica.**

Variables Antropométricas y Bioquímicas Dieta Cetogénica (n=9)												
	Edad (años)	Peso (kg)	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Masa grasa (kg)	Músculo (kg)	Grasa visceral (kg)	Circunferencia cintura (cm)	Metabolismo basal (kcal)	Glucosa al azar (mg/dL)	Glucosa en ayuno (mg/dL)	Presión Sistólica (mmHg)	Presión Diastólica (mmHg)
Tiempo 0	46.9± 11.4	87.2 ±7.7 <sup>a</sup>	32.5 ±3.3 <sup>a</sup>	34.5 ±7.5 <sup>a</sup>	24.2 ±4.7	4.5 ±1.39 <sup>a</sup>	105.4 ±9.0 <sup>a</sup>	1733.9 ±198.7	134 ±31.7 <sup>a</sup>	117.4 ±26.8 <sup>a</sup>	126.8 ±14.1 <sup>a</sup>	80.9 ±14.3
Tiempo 3		73.9 ±5.6 <sup>b</sup>	27.6 ±2.6 <sup>b</sup>	23.7 ±7.2 <sup>b</sup>	21.7 ±4.1	2.6 ±0.77 <sup>b</sup>	91.2 ±7.7 <sup>b</sup>	1600.9 ±161.9	97.6 ±18.2 <sup>b</sup>	87.4 ±10.9 <sup>b</sup>	108.8 ±9.9 <sup>b</sup>	70.9 ±10.2
Tiempo 6		75.06 ±9.7 <sup>b</sup>	27.5 ±2.9 <sup>b</sup>	21.8 ±7.9 <sup>b</sup>	23.3 ±5.1	2.6 ±1.48 <sup>b</sup>	92.5 ±12.8 <sup>b</sup>	1633.2 ±194.3	95.1 ±10.1 <sup>b</sup>	108 ±16.8 <sup>c</sup>	114.6 ±7.3 <sup>c</sup>	77.8 ±13.3
E(F/H)		9.007 <sup>H**</sup>	9.8 <sup>H**</sup>	7.186 <sup>F**</sup>	0.68 <sup>F</sup>	8.9 <sup>H*</sup>	9.8 <sup>H**</sup>	2.1 <sup>H</sup>	8.6 <sup>H*</sup>	9.8 <sup>H*</sup>	12.3 <sup>H**</sup>	3.3 <sup>H</sup>
Valores de referencia									70-115	70-115	120	80
	Hemoglobina (g/dL)	Creatinina (mg/dL)	Ác. Úrico (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)	Proteínas Totales (g/dL)	Albúmina (g/dL)	Globulina (g/dL)	DHL (U/L)	FA (U/L)
Tiempo 0	15.2 ±1.5	0.8 ±0.29	6.5 ±0.8	178 ±44.1	41.6 ±6.4	112.2 ±31.3	161.8 ±68.6 <sup>a</sup>	7.5 ±68.6	4.3 ±0.4	3.1 ±0.3	347.2 ±182.4	94.1 ±24.6
Tiempo 6	16.4 ±1.4	0.9 ±0.30	6.1 ±1.3	185.6 ±44.1	45.4 ±6.6	118.2 ±38	110.1 ±40.2 <sup>b</sup>	7.6 ±0.5	4.4 ±0.2	3.2 ±0.5	373.1 ±238.2	78.3 ±22.1
Valores de referencia	13.8-17.2 M 12.1-15.1 F	0.7-1.3 M 0.5-1.1 F	3.4-7.2 M 2.6-6 F	140-200 M 140-180 F	>55 H >65 M	<130 M <70 F	45 a 179	6.0 a 8.3	3.5 a 5	2.3 a 3.5	105 a 333	20 a 130
E(F/H)	2.64 <sup>F</sup>	0.39 <sup>H</sup>	0.39 <sup>H</sup>	0.01 <sup>F</sup>	3.85 <sup>F</sup>	0.11 <sup>F</sup>	3.57 <sup>H*</sup>	0.04 <sup>H</sup>	0.14 <sup>F</sup>	0.025 <sup>H</sup>	0.04 <sup>H</sup>	2.06 <sup>F</sup>
	GGT (U/L)	TGO (U/L)	TGP (U/L)	BT (mg/dl)	BD (mg/dl)	BI (mg/dl)	Semanas de cetosis	Cetonemia (mmol/L)	DH: deshidrogenasa láctica, FA: fosfatasa alcalina, TGO: aspartato aminotransferasa, TGP: alanina aminotransferasa, GGT: gamma glutamil transpeptidasa, BT: bilirrubina total, BD: bilirrubina directa, BI: bilirrubina indirecta. Medias con diferente letra presentaron diferencias significativas (a, b, c) p <0.05 * p <0.01 ** H= Valores obtenidos a partir de la prueba de Kruskal-Wallis F= Valores obtenidos a partir de ANOVA de dos vías.			
Tiempo 0	51 ±31	39.3 ±22.2 <sup>a</sup>	49.2 ±28.6 <sup>a</sup>	0.6 ±0.2	0.2 ±0.1 <sup>a</sup>	0.4 ±0.2	1	1.4 ±0.6 <sup>a</sup>				
Tiempo 6	35.5 ±17.1	24.3 ±6.8 <sup>b</sup>	28.9 ±9.2 <sup>b</sup>	0.7 ±0.2	0.23 ±0.1 <sup>b</sup>	0.4 ±0.1	5	0.8 ±0.3 <sup>b</sup>				
Valores de referencia	8 a 65	32	31	0.20-1.30	0 a 0.3	0.1 a 0.5	9	0.8 ±0.5 <sup>b</sup>				
E(F/H)	0.62 <sup>H</sup>	2.32 <sup>H*</sup>	5.36 <sup>H*</sup>	0.75 <sup>H</sup>	4.28 <sup>H*</sup>	0.02 <sup>H</sup>	E(F/H)	7.2 <sup>H*</sup>				

## Perfil Clínico de Pacientes Sometidos a Dieta Mediterránea

Los pacientes sometidos a dieta Mediterránea tuvieron una edad promedio de 48.8 años  $\pm 8.8$ , los cuales presentaron un peso inicial de  $92.6 \pm 13.7$  kg con un IMC de  $31.16 \pm 3.9$  kg/m<sup>2</sup>, el cual ponderaba a estos pacientes como “obesos clase I”. Al terminar el régimen dietético lograron bajar  $5.4 \pm 1.1$  kg, esta pérdida de peso llevó a los pacientes al límite superior de la categoría de sobrepeso (IMC  $28.96 \pm 4.9$  kg/m<sup>2</sup>). De forma contraria a los pacientes de dieta cetogénica, estos pacientes continuaron tomando fármacos hipoglucemiantes; después de algunos días de dieta, se les fueron retirando paulatinamente los fármacos, logrando mejoras significativas en los niveles de glucosa al azar por efecto de la dieta ( $\bar{x}$  glucosa/azarT0=  $142.4 \pm 41.1$  mg/dL;  $\bar{x}$  glucosa/azarT3=  $96.4 \pm 11.3$  mg/dL; H=6.99,  $p \leq 0.05$ ); aunque la glucosa en ayuno no tuvo modificaciones con significancia estadística, es evidente que se presentó una disminución de sus valores, registrándose cifras dentro de los rangos normales de glucosa en sangre a lo largo del tratamiento ( $\bar{x}$  glucosa/ayunoT0=  $123.4 \pm 36.3$  mg/dL;  $\bar{x}$  glucosa/ayunoT3=  $107.14 \pm 16.1$  mg/dL). El metabolismo basal sufrió una insignificante disminución de 3%, esto ligeramente menor a lo observado en la dieta cetogénica (Tabla 5).

La pérdida de masa grasa total fue de  $3.6 \pm 0.5$  kg de la cual  $0.6 \pm 0.1$  kg correspondió a grasa visceral sin pérdidas importantes de masa muscular ( $\bar{x}$  masa muscularT0=  $25.8 \pm 7.9$  kg;  $\bar{x}$  masa muscular T3=  $24.5 \pm 8.7$  kg). Esto generó una disminución no significativa de  $4.4$  cm  $\pm 1.6$  de circunferencia de cintura.

Debido a prescripción médica de antibiótico para un paciente ocurrido en la semana 24 (tiempo 6), los datos de dicho paciente no fueron considerados para este tiempo .

Tres meses y medio después de haber concluido el tratamiento dietético, (semana 24) los pacientes lograron mantenerse en el peso logrado

por la dieta, observándose incluso disminuciones de  $2.2 \pm 1.5$  kg de peso después de haber concluido la misma ( $\bar{x}_{\text{peso T3}} = 87.2 \pm 16.3$  kg;  $\bar{x}_{\text{peso T6}} = 85.14 \pm 16.6$ ) kg. Parámetros como la glucosa al azar, pérdidas de masa grasa y visceral, masa muscular y circunferencia de cintura se conservaron iguales respecto a los valores finales de la intervención (estadísticamente sin cambios significativos respecto al tiempo 3, todos los anteriores con valores  $p \geq 0.05$ ). Cabe destacar que la glucosa tanto al azar como en ayuno permanecieron dentro del rango considerado “normal”, aún después de terminar la dieta y de haber suspendido el tratamiento con hipoglucemiantes ( $\bar{x}_{\text{glucosa azar T6}} = 93.2 \pm 12.7$  mg/dL;  $\bar{x}_{\text{glucosa ayuno T6}} = 109 \pm 5.3$  mg/dL; valores de referencia 70-115 mg/dL).

Con respecto a las variables bioquímicas, exceptuando a la albúmina que aumentó ( $\bar{x}_{\text{albúmina T0}} = 4.32 \pm 0.2$  g/dL;  $\bar{x}_{\text{albúmina T3}} = 4.62 \pm 0.2$  g/dL;  $F = 4.5$ ,  $p \leq 0.05$ ) y la enzima TGO que disminuyó ( $\bar{x}_{\text{TGO T0}} = 31.4 \pm 10$  U/L;  $\bar{x}_{\text{TGO T3}} = 20.4 \pm 4.8$  U/L;  $H = 4.5$ ,  $p \leq 0.05$ ), ambas significativamente, los demás parámetros permanecieron sin modificarse (sin significancia estadística) con respecto al valor inicial; que si bien, sí pueden destacarse ligeras mejoras en algunos parámetros bioquímicos potencialmente debido a la intervención, como por ejemplo los triglicéridos ( $\bar{x}_{\text{TGL T0}} = 404.6 \pm 344$  U/L;  $\bar{x}_{\text{TGL T6}} = 155.2 \pm 57.8$  U/L), FA ( $\bar{x}_{\text{FA T0}} = 88.2 \pm 29.2$  U/L;  $\bar{x}_{\text{FA T6}} = 70.2 \pm 23.6$  U/L), GGT ( $\bar{x}_{\text{GGT T0}} = 100 \pm 41.8$  U/L;  $\bar{x}_{\text{GGT T6}} = 47.4 \pm 45.9$  U/L) y TGP ( $\bar{x}_{\text{TGP T0}} = 57.6 \pm 69.7$  U/L;  $\bar{x}_{\text{TGP T6}} = 23.2 \pm 8.6$  U/L). Estas últimas pueden considerarse marcadores de daño hepático, lo cual nos sugiere pensar que resulta benéfica la intervención para el paciente.

**Tabla 5 Promedio de variables antropométricas y bioquímicas de pacientes sometidos a dieta mediterránea.**

Variables Antropométricas y Bioquímicas Dieta Mediterránea (n=5)												
	Edad (años)	Peso (kg)	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Masa grasa (kg)	Músculo (kg)	Grasa visceral (kg)	Circunferencia cintura (cm)	Metabolismo basal (kcal)	Glucosa al azar (mg/dL)	Glucosa en ayuno (mg/dL)	Presión Sistólica (mmHg)	Presión Diastólica (mmHg)
Tiempo 0	48.8 ± 8.8	92.64 ±15.2	31.16 ±3.9	32.664 ±4.6	25.838 ±7.9	4.276 ±2.0	106.4 ±11.2	1782.71 ±340	142.4 ±41.1 <sup>a</sup>	123.4 ±36.3	141.4 ±22.4	84.2 ±5.8
Tiempo 3		87.2 ±16.3	28.96 ±4.9	28.908 ±4.1	24.496 ±8.7	3.786 ±1.7	102 ±12.8	1722.5 ±337.9	96.4 ±11.3 <sup>b</sup>	107.14 ±11.6	122 ±16.1	76 ±7.9
Tiempo 6		85.03 ±16.6	28.06 ±5.4	27.03 ±6.5	23.842 ±8.2	2.894 ±1.0	99 ±14.7	1691.83 ±327	93.2 ±12.7 <sup>b</sup>	109 ±5.3	131 ±27.0	81 ±13.9
E(F/H)		1.86 <sup>H</sup>	1.99 <sup>H</sup>	1.54 <sup>F</sup>	0.07 <sup>F</sup>	2.23 <sup>H</sup>	0.78 <sup>H</sup>	1.46 <sup>H</sup>	6.99 <sup>H*</sup>	0.54 <sup>H</sup>	1.68 <sup>H</sup>	1.88 <sup>H</sup>
Valores de referencia									70-115	70-115	120	80
	Hemoglobina (g/dL)	Creatinina (mg/dL)	Ác. Úrico (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)	Proteínas Totales (g/dL)	Albúmina (g/dL)	Globulina (g/dL)	DHL (U/L)	FA (U/L)
Tiempo 0	15.38 ±0.9	0.92 ±0.3	6.24 ±0.9	213.8 ±45.8	36.12 ±6.6	114.92 ±36.6	404.6 ±345	8.52 ±1.3	4.32 ±0.2 <sup>a</sup>	4.2 ±1.2	231.8 ±41.1	88.2 ±29.2
Tiempo 6	16.18 ±0.8	0.88 ±0.2	7.58 ±2.0	219.5 ±59.4	39.8 ±7.7	148.4 ±53.3	155.2 ±57.8	7.62 ±0.3	4.62 ±0.2 <sup>b</sup>	3 ±0.3	222.2 ±34.5	70.2 ±23.6
Valores de referencia	13.8-17.2 M 12.1-15.1 F	0.7-1.3 M 0.5-1.1 F	3.4-7.2 M 2.6-6 F	140-200 M 140-180 F	>55 H >65 M	<130 M <70 F	45 a 179	6.0 a 8.3	3.5 a 5	2.3 a 3.5	105 a 333	20 a 130
E(F/H)	2.81 <sup>F</sup>	0.01 <sup>H</sup>	2.47 <sup>H</sup>	0.02 <sup>F</sup>	0.66 <sup>F</sup>	1.34 <sup>F</sup>	3.15 <sup>H</sup>	1.58 <sup>H</sup>	4.5 <sup>F*</sup>	2.82 <sup>H</sup>	0.27 <sup>H</sup>	1.49 <sup>F</sup>
	GGT (U/L)	TGO (U/L)	TGP (U/L)	BT (mg/dl)	BD (mg/dl)	BI (mg/dl)	DH: deshidrogenasa láctica, FA: fosfatasa alcalina, TGO: aspartato aminotransferasa, TGP: alanina aminotransferasa, GGT: gamma glutamil transpeptidasa, BT: bilirrubina total, BD: bilirrubina directa, BI: bilirrubina indirecta. Medias con diferente letra presentaron diferencias significativas (a, b, c) p <0.05 * p <0.01 ** H= Valores obtenidos a partir de la prueba de Kruskal-Wallis F= Valores obtenidos a partir de ANOVA de dos vías.					
Tiempo 0	100 ±141.8	31.4 ±10 <sup>a</sup>	57.6 ±69.7	0.68 ±0.4	0.14 ±0.1 <sup>a</sup>	0.54 ±0.3						
Tiempo 6	47.4 ±45.9	20.4 ±4.8 <sup>b</sup>	23.2 ±8.6	0.78 ±0.2	0.28 ±0.1 <sup>b</sup>	0.5 ±0.1						
Valores de referencia	8 a 65	32	31	0.20-1.30	0 a 0.3	0.1 a 0.5						
E(F/H)	0.88 <sup>H</sup>	4.5 <sup>H*</sup>	0.88 <sup>H</sup>	0.69 <sup>H</sup>	3.9 <sup>H*</sup>	0.09 <sup>H</sup>						

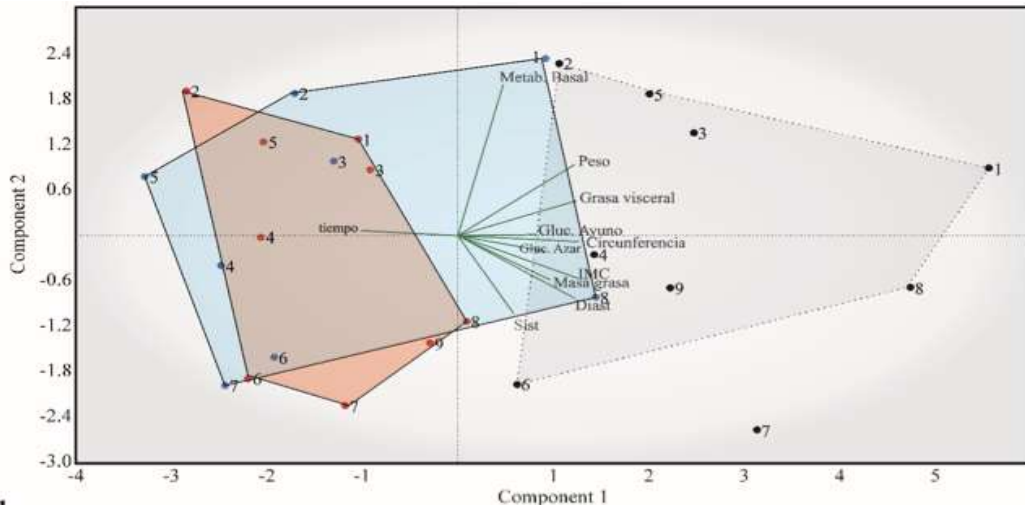
## **Análisis Multivariado de las variables Antropométricas y Bioquímicas**

Los análisis de componentes principales (ACPs) mostraron que el tratamiento cetogénico diferenció más el perfil antropométrico de los pacientes entre los tiempos respecto al mediterráneo.

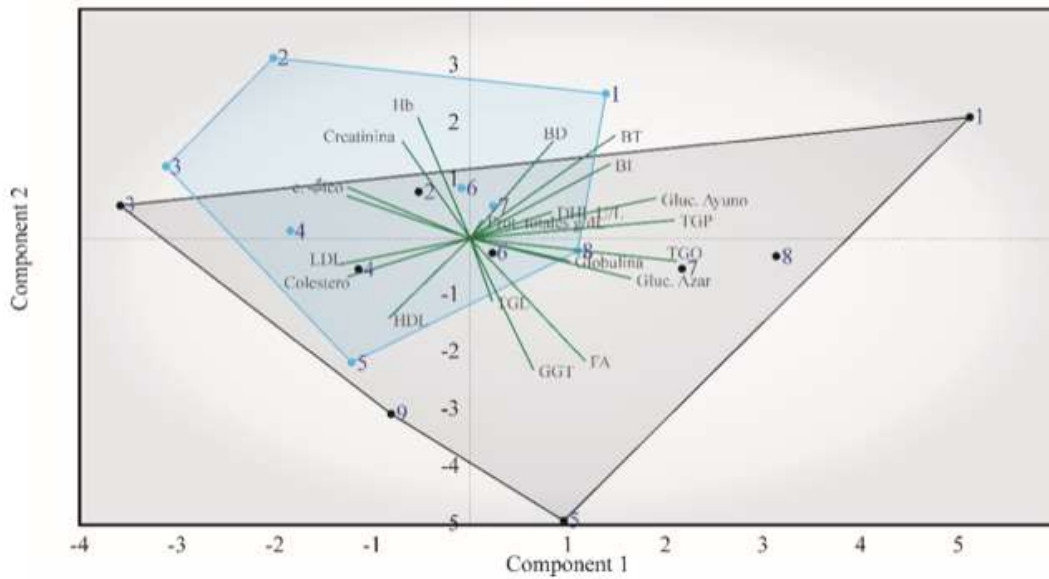
Los ACPs basados en las variables antropométricas de la dieta cetogénica y mediterránea explicaron en los dos primeros componentes el 69.2% (PC1 47.2%, PC2 21.96%) y 75.9% (PC1 58.2%, PC2 17.8%) de la variación total de las variables originales, respectivamente. El gráfico de dispersión de los componentes uno y dos de la dieta cetogénica mostró dos conjuntos de puntos (Fig. 10) ; uno de ellos correspondiente a los pacientes en el tiempo cero (antes de iniciar la dieta) y el otro a los pacientes de los tiempos tres (semana nueve, al término de la dieta) y seis (semana 24, tres meses y medio después de la dieta). Los vectores representando las variables originales dentro de este gráfico, indicaron que la variables antropométricas que contribuyeron a la diferenciación de estos grupos son: peso, IMC, masa grasa, grasa visceral, circunferencia de cintura, presión sistólica y diastólica, glucosa en ayuno y glucosa al azar.

Por el contrario, en el gráfico de dispersión de los dos primeros componentes principales de la dieta mediterránea, no se observaron grupos de pacientes de acuerdo al tiempo de la dieta, no obstante dentro de este gráfico, los pacientes por separado sí presentaron diferencias respecto así mismos en los tres tiempos (Fig 13).

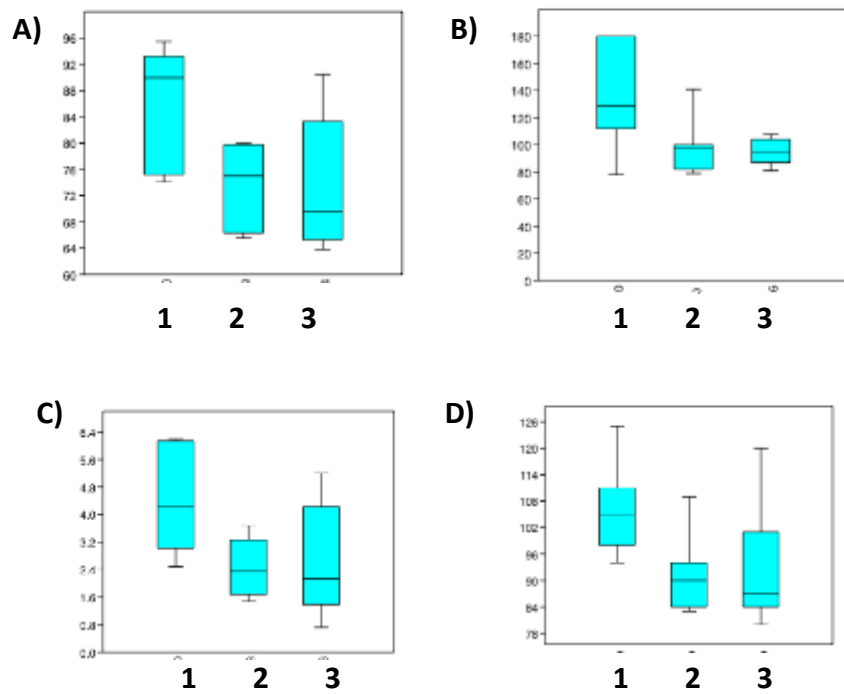




**Figura 10 Análisis de componentes principales basado en las variables antropométricas de los pacientes del grupo de dieta cetogénica.** (componente1 47.2%, componente2 21.96%). Los puntos negros representan los valores de los pacientes antes del tratamiento; los rojos al término y los azules tres meses y medio después de concluirlo.

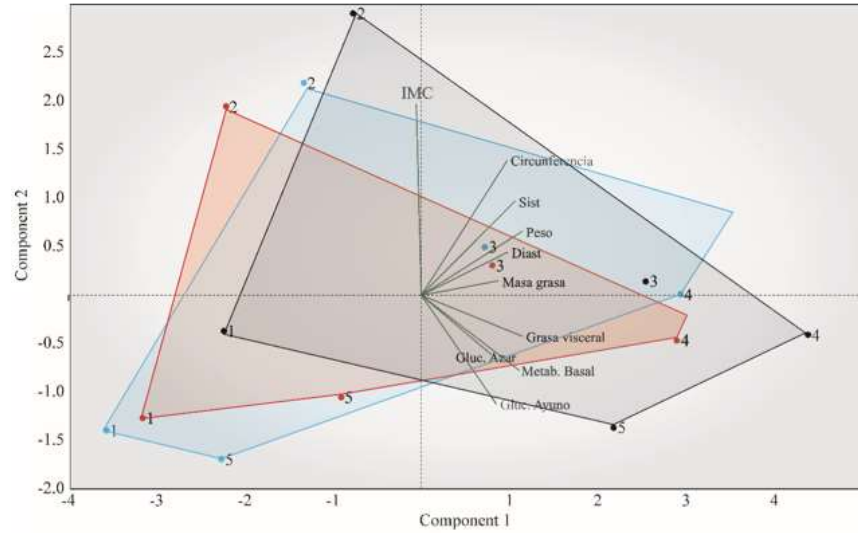


**Figura 11 Análisis de componentes principales basado en las variables bioquímicas de los pacientes del grupo de dieta cetogénica.** (componente1 28.4%, componente2 21.1%). Los puntos negros representan los valores de los pacientes antes del tratamiento; los azules, tres meses y medio después de concluirlo.

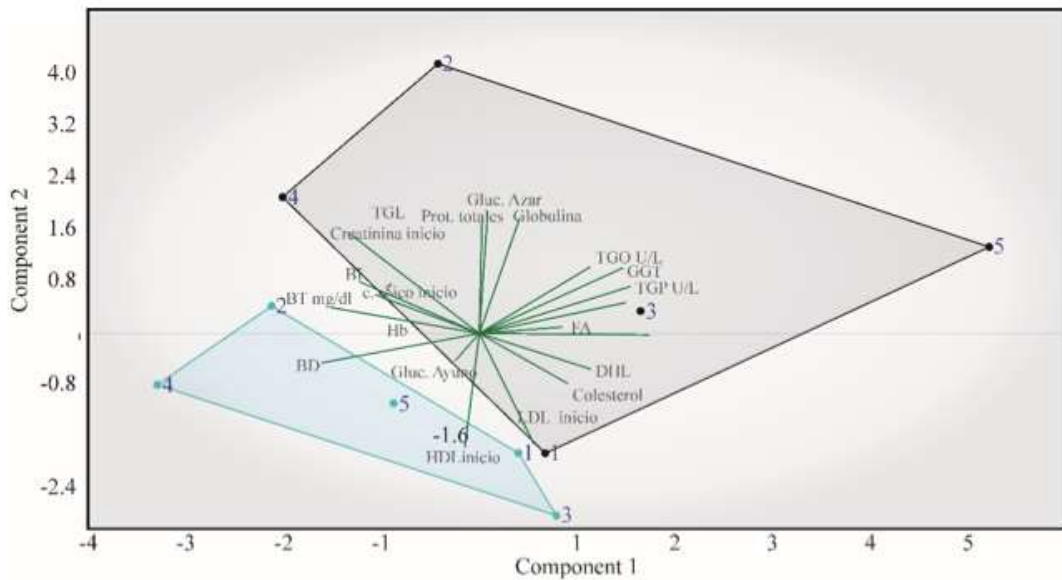


**Figura 12** Diagramas de caja de las variables que más contribuyeron a diferenciar a los grupos en los ACPs.

**A)** Peso, **B)** glucosa al azar, **C)** grasa visceral **D)** circunferencia de cintura; **1)** Antes de la dieta; **2)** Término de la dieta; **3)** tres meses y medio post-dieta.



**Figura 13** Análisis de componentes principales basado en las variables antropométricas de los pacientes del grupo de dieta mediterránea. (componente1 58.2%, componente2 17.8%) Los puntos negros representan los valores de los pacientes antes del tratamiento; los rojos al término y los azules tres meses y medio después de concluirlo.



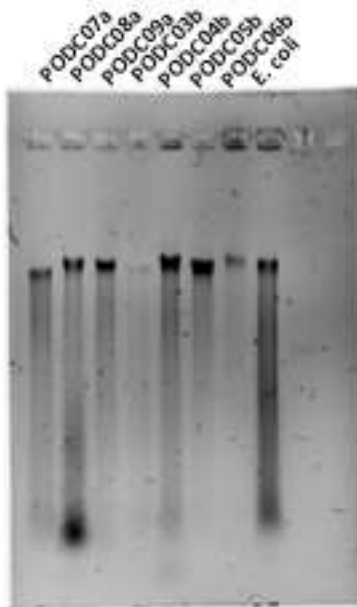
**Figura 14** Análisis de componentes principales basado en las variables bioquímicas de los pacientes del grupo de dieta mediterránea. (componente1 28.2%, componente2 25.5%) Los puntos negros representan los valores de los pacientes antes del tratamiento; los azules tres meses y medio después de concluirlo.

Los ACPs basados en las variables bioquímicas de la dieta cetogénica y mediterránea explicaron en los dos primeros componentes el 49.5% (PC1 28.4%, PC2 21.1%) y 53.7% (PC1 28.2%, PC2 25.5%) de la variación total de las variables originales, respectivamente (Fig. 11 y 14). El gráfico de dispersión de los componentes no separó a los pacientes en grupos correspondientes a los tiempos para la dieta cetogénica, sin embargo los pacientes por separado sí presentaron diferencias respecto así mismos en los dos tiempos. Por otra parte el gráfico de dispersión de la dieta mediterránea logró separar a los pacientes de los dos tiempos; aquellos correspondientes al tiempo cero presentaron mayor dispersión dentro del gráfico respecto al tiempo 6. Los vectores representando las variables originales dentro del gráfico de la dieta mediterránea, mostraron que las variables que más contribuyeron a la diferenciación de estos dos grupos son: HDL, triglicéridos y glucosa al azar.

## Caracterización de la Microbiota Intestinal Bacteriana a partir de las Muestras de Copro

### Extracción de copro-DNA

Se extrajeron los DNA genómicos de todas las muestras utilizando el protocolo de AquaStool bajo las indicaciones del fabricante. Posterior a la extracción se determinó la concentración de DNA así como el coeficiente 260/280 de las muestras utilizando equipo Nanodrop LITE (Thermo Scientific) para calcular las cantidades de DNA necesarias a utilizar para la reacciones de PCR diagnóstica.



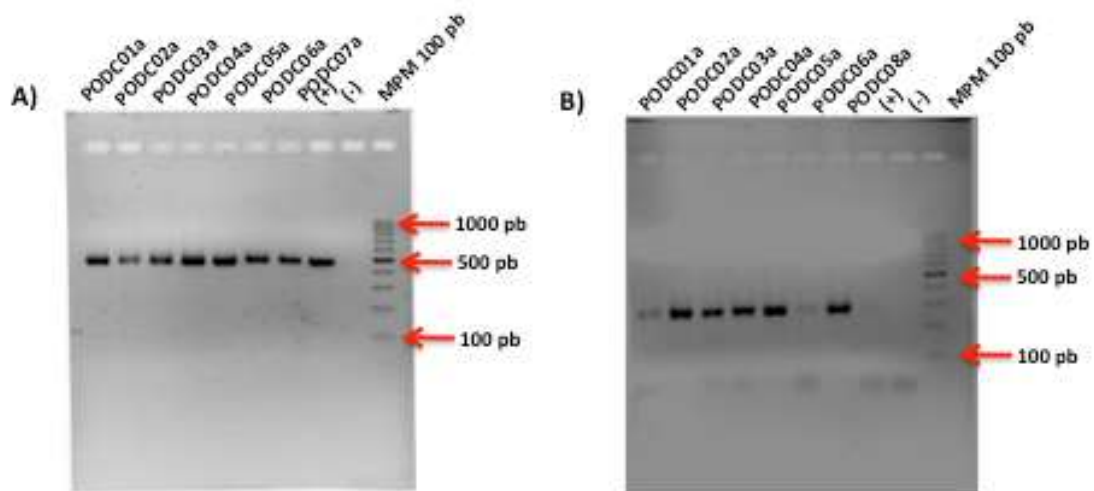
**Figura 15 DNA genómico extraído de diferentes muestras de copro.**

Geles de agarosa al 0.5% con DNA extraído de muestras de copro de pacientes; como control de DNA de *E. coli*.

### Generación de genotecas V3 del 16S rDNA.

Utilizando los DNA extraídos de las muestras recolectadas se realizaron PCR diagnósticos que amplifican una región hipervariable del gen ribosomal 16S amplificable por los primers CGO465 que comprueba la presencia de DNA bacteriano en las muestras.

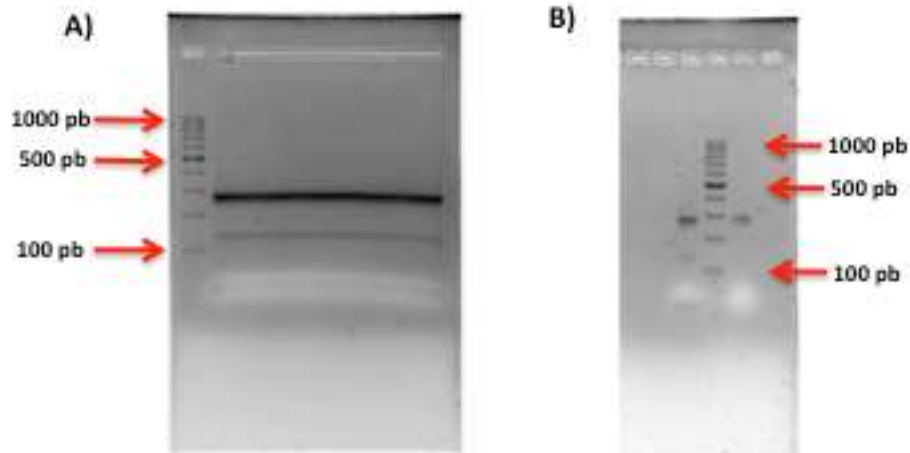
Una vez comprobado que las muestras amplificaron la región hipervariable V3-V4 del gen ribosomal 16S con un producto de reacción correspondiente a 465 pb, se realizaron de nuevo reacciones de PCR empleando primers con “Barcodes” que contienen una secuencia “Linker” que permite realizar la secuenciación semiconductora de iones e identificar a cada una de las muestras de forma individual. Luego de obtener amplicones de 281 pb con esta nueva amplificación, se realizaron reacciones de PCR masivas de dichas muestras con la finalidad de aumentar la cantidad de producto de PCR que garantice una mejor calidad de secuenciación.



**Figura 16 Geles de agarosa con productos de amplificación de PCR diagnóstica y con Barcodes.**

Geles de agarosa 2% con productos de PCR: **A)** Gel de electroforesis con productos de PCR diagnóstica de región hipervariable del gen ribosomal 16S amplificado por primers CGO45 con amplicones de 465pb. **B)** Gel de electroforesis con productos de PCR amplificado por primers con Barcodes con productos de reacción de 281 pb.

Una vez que se asignaron las secuencias identificadoras (Barcode) a cada una de las muestras y utilizando sus respectivas cuantificaciones de DNA, se mezcló el equivalente a 10 µg de cada una de ellas formando un mix, el cual se corrió en un gel preparativo con las mismas condiciones antes descritas; se cortó el gel con la banda que correspondía al peso esperado de 281 pb. La banda cortada se purificó con kit Wizard® SV Gel and PCR Clean- Up System de Promega. Por último se realizó una electroforesis con gel analítico al 2% de agarosa para comprobar el peso del producto de purificación de 281 pb y se cuantificó la concentración de DNA recuperado y con el mismo se procedió a realizar la masiva (Fig. 17).



**Figura 17 Geles preparativos para secuenciación.**

Geles de agarosa 2% con productos de PCR: **A)** Gel de electroforesis con pool de productos de PCR de 281 pb. de región hipervariable V3 del gen ribosomal 16S amplificado por primers con Barcodes **B)** Gel de electroforesis del pool de muestras de 281 pb antes de purificar y después de la purificación, separados por marcador de peso molecular de 100 pb

## **Estructura y Diversidad de la Comunidad Bacteriana**

### **Estructura de la comunidad (alfa diversidad)**

Un total de 7 661 956 secuencias se obtuvieron a partir de 92 muestras sometidas a análisis de secuenciación masiva semiconductora de iones. Luego aplicar los análisis de calidad 6,662,686 se utilizaron para los análisis estadísticos. El número total obtenido por muestras varió entre 5622 a 320863. Por ello, se trabajó con una media de 72420.5 lecturas por muestra, exceptuando el caso de la muestra con el valor más bajo de lecturas presentao (5622). A partir de las lecturas depuradas, un total de 16,248 OTUs se identificaron de las 92 muestras con un 97% de similaridad de secuencia.

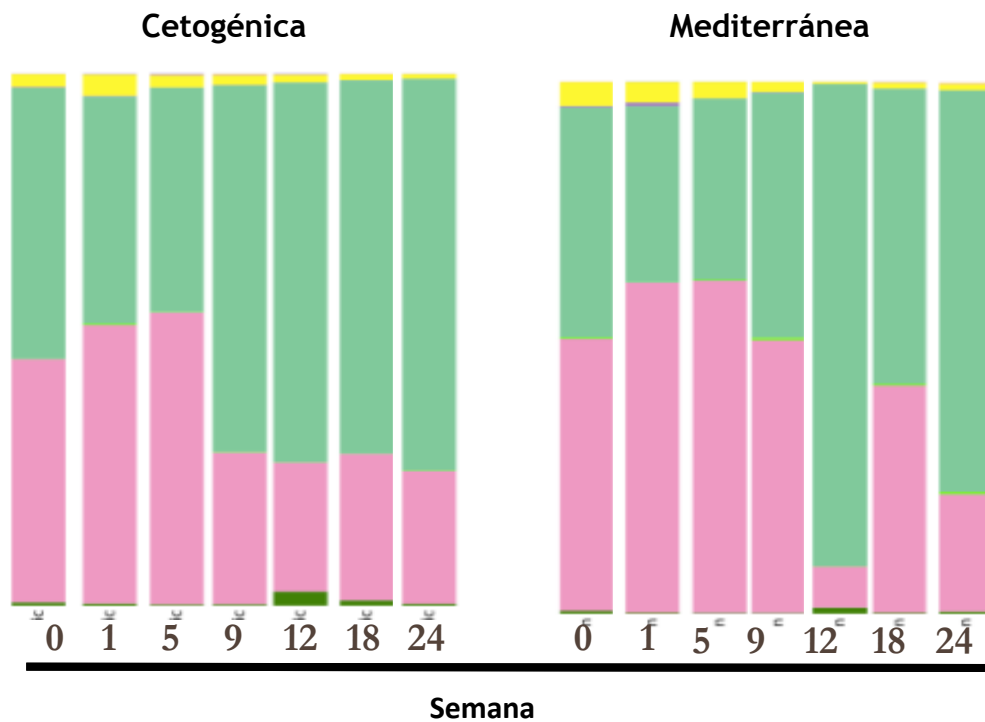
La secuenciación masiva permitió registrar un total de 51 phyla, 105 clases, 180 órdenes, 271 familias y 573 géneros de manera general para los dos tratamientos en todos los tiempos estudiados, de los cuales, sólo para la dieta cetogénica se determinaron 46 phyla, 98 clases, 163 órdenes, 256 familias y 520 géneros; y 41 phyla, 87 clases, 149 órdenes, 227 familias y 438 géneros para la mediterránea (Tabla Anexa J y K).

Los datos a nivel de phylum para las dos dietas en los siete diferentes tiempos (Fig. 18) muestran que antes de iniciar el tratamiento dietético el perfil de la microbiota tuvo una relación de firmicutes con respecto a Bacteroidetes de 1:1. Conforme avanzaron ambos protocolos, las abundancias relativas a este mismo nivel, se modificaron, viéndose disminuciones en el phylum Bacteroidetes (color rosa) e incrementos del phylum Firmicutes (color verde claro). Para la dieta mediterránea no se observa un patrón de comportamiento, mientras que a lo largo de la dieta cetogénica se aprecian modificaciones homogéneas, las cuales persisten después de la semana nueve (término de la dieta) estableciéndose finalmente una relación 3:1 Firmicutes/Bacteroidetes en el resto de los



tiempos. Para ambas dietas, el tiempo 24 tuvo una relación 3:1 *Firmicutes/Bacteroidetes*.

Por otra parte el perfil del phylum *Proteobacteria* disminuyó en su abundancia relativa de forma significativa como resultado de la intervención con ambas dietas (cetogénica  $p \leq 0.01$ , mediterránea  $p \leq 0.01$ ), mientras que las modificaciones en el phylum de *Actinobacteria* tuvo significancia estadística sólo para la dieta mediterránea ( $p \leq 0.05$ ).



**Figura 18 Abundancias relativas a nivel phylum.**

Abundancias relativas a nivel phylum antes (Semana 0), durante (Semanas 1,5,9) y después (12, 18, 24) de las intervenciones dietéticas. En orden descendente, el color amarillo denota al phylum *Proteobacterias*, verde claro *Firmicutes*, rosa *Bacteroidetes* y verde oscuro *Actinobacterias*.

La comparación de los valores de riqueza a nivel de género entre las dos dietas mostró que la dieta cetogénica tuvo mayor riqueza con respecto a la dieta mediterránea. En promedio los pacientes de la dieta cetogénica presentaron de 261 a 304 géneros a lo largo de los diferentes tiempos y los

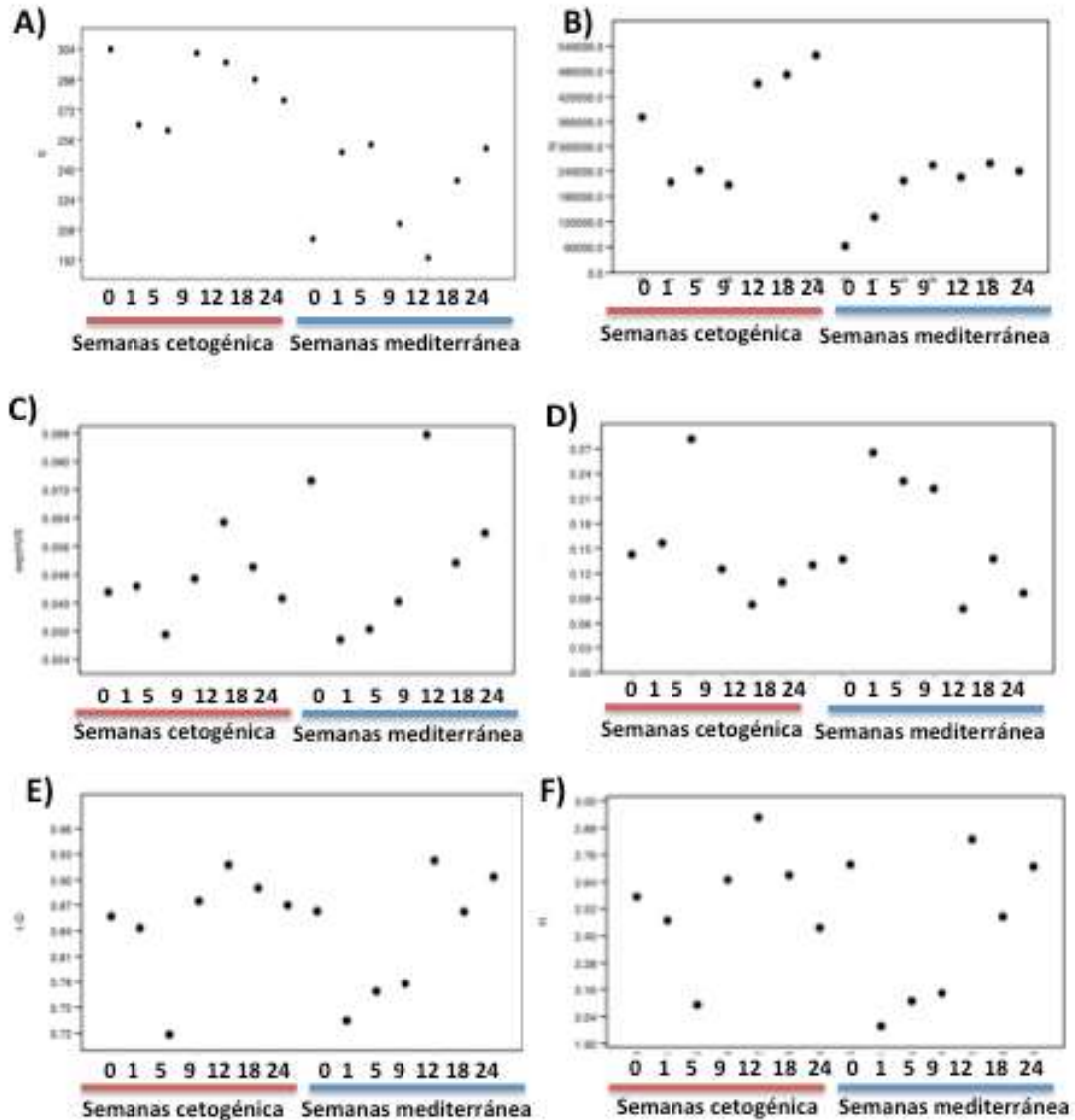
de la dieta mediterránea de 193 a 253. El tiempo uno (antes de iniciar el tratamiento) de la dieta cetogénica fue el que tuvo el valor mas alto de riqueza durante los siete tiempos analizados, presentando 304 géneros (Fig. 19).

Al comparar los tiempos cero de ambas dietas, se puede observar que los pacientes de la dieta cetogénica presentaban valores de riqueza y abundancia mucho mayores al empezar el tratamiento respecto a los de la dieta mediterránea, con diferencias en la riqueza de 101 géneros y en la abundancia de 308,334 lecturas. A pesar de estas diferencias en la riqueza y abundancia, en ambas dietas se presentaron comunidades equitativas, con valores de equitatividad de 0.04 y 0.07, índice de Simpson de 0.85 y 0.86 e índice de Shannon de 2.57 y 2.71 para la dieta cetogénica y mediterránea respectivamente (Fig. 19).

Ambas dietas presentaron cambios en la microbiota en las primeras semanas del tratamiento (tiempo uno y dos), para la dieta cetogénica la riqueza y la abundancia disminuyeron, mientras que en la dieta mediterránea estas mismas aumentaron. Un patrón común que podemos observar para ambas dietas fue el aumento de la dominancia a lo largo del tratamiento, lo que se traduce en una equitatividad baja. Los géneros dominantes durante el periodo de las dietas fueron: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Parabacteroides*, *Faecalibacterium*, *Lachnospira* y *Ruminococcus* para la dieta cetogénica y *Parabacteroides* y *Prevotella* principalmente para la mediterránea (Fig. 20 y 21).

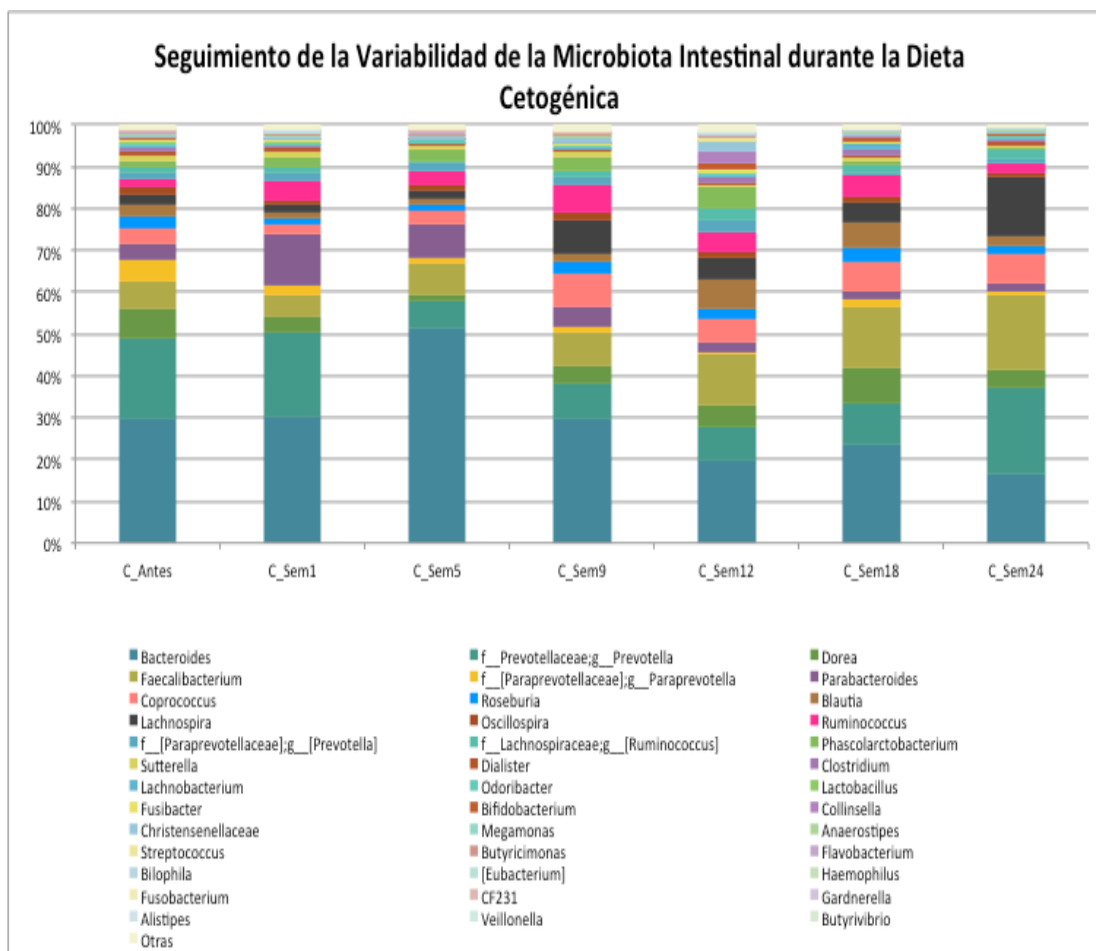
Distintos géneros de bacterias se encontraron exclusivamente en el grupo de pacientes de dieta cetogénica (131 géneros) así como en el grupo de dieta mediterránea (52 géneros) (Anexo N y O). De forma contraria, los géneros *Bacteroides*, *Blautia*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Faecalibacterium*, *Fusibacter*, *Lachnospira*, *Parabacteroides*, *Paraprevotella*, *Prevotella*,

*Roseburia* y *Ruminococcus* estuvieron presentes en ambas dietas en todos los tiempos estudiados (Anexo R).



**Figura 19** Descriptores de diversidad.

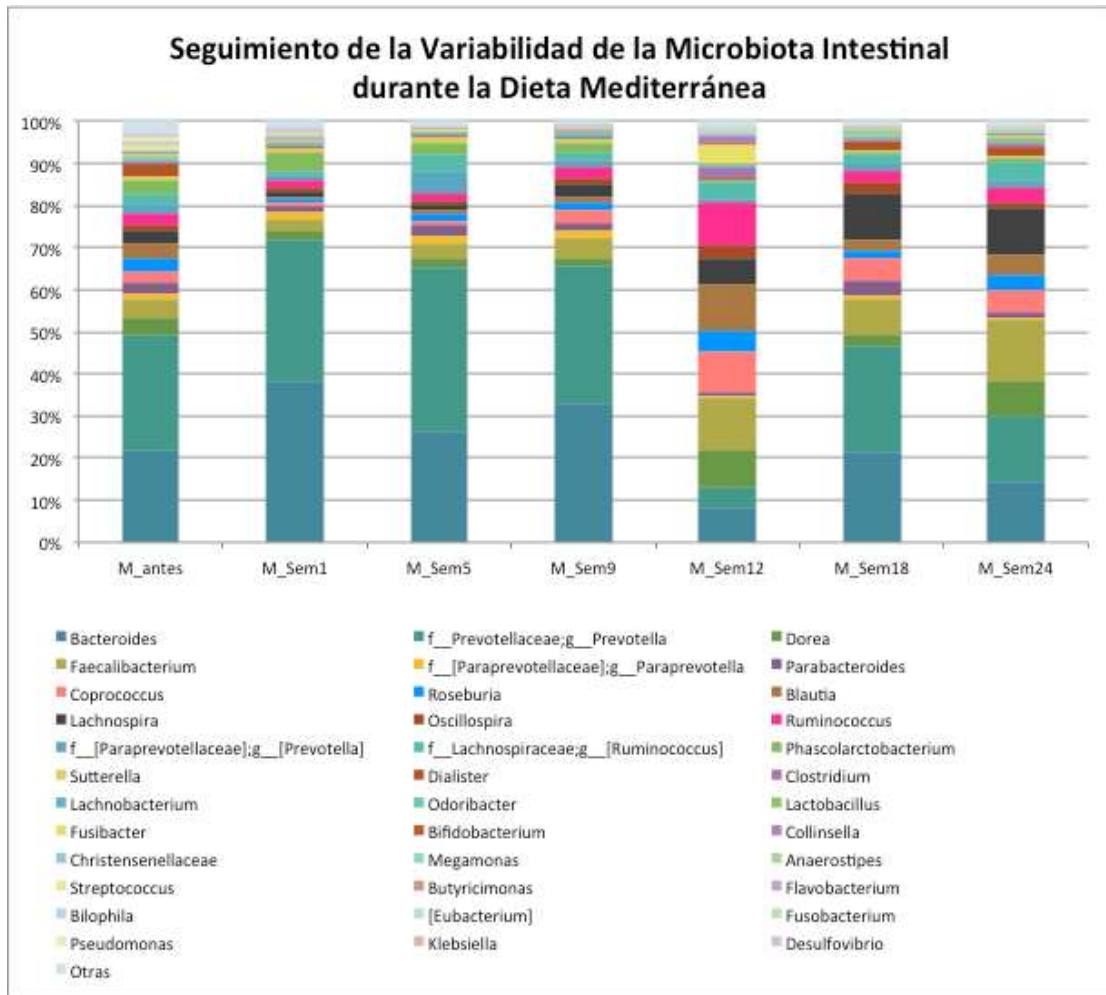
Gráficas con descriptores de diversidad para los siete tiempos de la dieta cetogénica y mediterránea: **A)** Número de géneros (riqueza); **B)** Número de lecturas/OTUs (abundancia); **C)** Equitatividad; **D)** Dominancia, **E)** índice de Simpson e **F)** índice de Shannon.



**Figura 20 Abundancias relativas a nivel género por semana para la dieta cetogénica.**

Antes (semana cero), durante (semanas uno, cinco y nueve) y después (semanas 12, 18 y 24) de la intervención.

Setenta y nueve de los géneros que formaban parte de la comunidad microbiana antes de iniciar la dieta cetogénica, no se encontraron al término de la misma (Anexo L); al igual que se lograron observar 84 géneros al término de la dieta, que antes de iniciar no estaban presentes (Anexo M). Al comparar el número de géneros presentes inmediatamente al término de ambos tratamientos, se cuantificaron 116 géneros exclusivos en los pacientes de dieta cetogénica y 26 en la dieta mediterránea (Anexo Q).



**Figura 21** Abundancias relativas a nivel de género por semana para la dieta mediterránea.

Antes (semana cero), durante (semanas uno, cinco y nueve) y después (semanas 12,18 y 24) de la intervención.

## **Estructura de la Comunidad (beta diversidad)**

Los análisis multivariados de coordenadas principales (ACoPs) basados en las matrices de presencia y ausencia mostraron que las dietas modelaron las comunidades bacterianas de los pacientes de manera distinta.

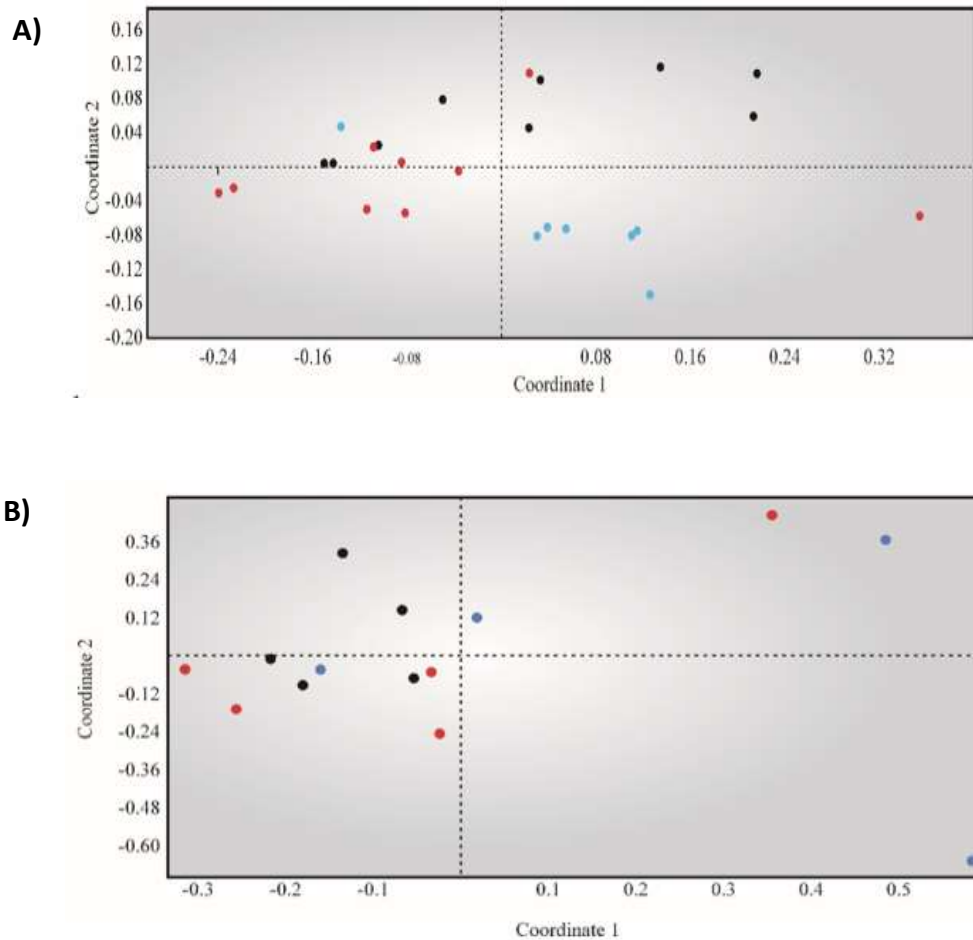
### ***Composición de las Comunidades (presencia-ausencia)***

Los ACoPs basados en los datos de ausencia-presencia de las dietas cetogénica y mediterránea explicaron en las dos primeras coordenadas principales (CoPs) el 32.03 % (CoP1 22.8 % y CoP2 9.2 %) y 45.08 % (CoP1 32.6 % y CoP2 12.5 %) de la variación total de las variables originales respectivamente.

El gráfico de dispersión de las coordenadas uno y dos de la dieta cetogénica mostró que la composición de las comunidades bacterianas antes de iniciar la dieta (tiempo cero) difería notablemente entre los pacientes; por lo cual, en el gráfico de dispersión los puntos que representan a la comunidad de cada paciente se observan más separados entre sí. Contrario al tiempo cero, las comunidades de los tiempos tres y seis mostraron menor dispersión y se recuperaron en dos diferentes grupos, lo cual es, reflejo de una mayor similitud de sus comunidades dentro de cada tiempo y de la disimilitud entre los tiempos, respectivamente. Los géneros que contribuyeron a explicar estas diferencias fueron *Tepidimicrobium*, *HA73*, *Paludibacter*, *Lutispora*, *Nitrobacter*, *Mariprofundus*, *Sarcina*, *Microbacterium*, *Edwardsiella*, *Syntrophomonas*.

En el análisis la dieta mediterránea las comunidades de los pacientes no se recuperaron en grupos de acuerdo a los tiempos. Las comunidades bacterianas antes de iniciar la dieta no difirieron notablemente entre los pacientes, por lo cual, los puntos no se encuentran separados. Por su parte, las comunidades de los pacientes en los tiempos tres y seis presentaron

mayor dispersión en el gráfico, indicando que la intervención dietética modeló comunidades distintas para cada paciente en cada uno de los tiempos.



**Figura 22 Análisis de coordenados principales basado en las matrices de ausencia/presencia de as comunidades microbianas.**

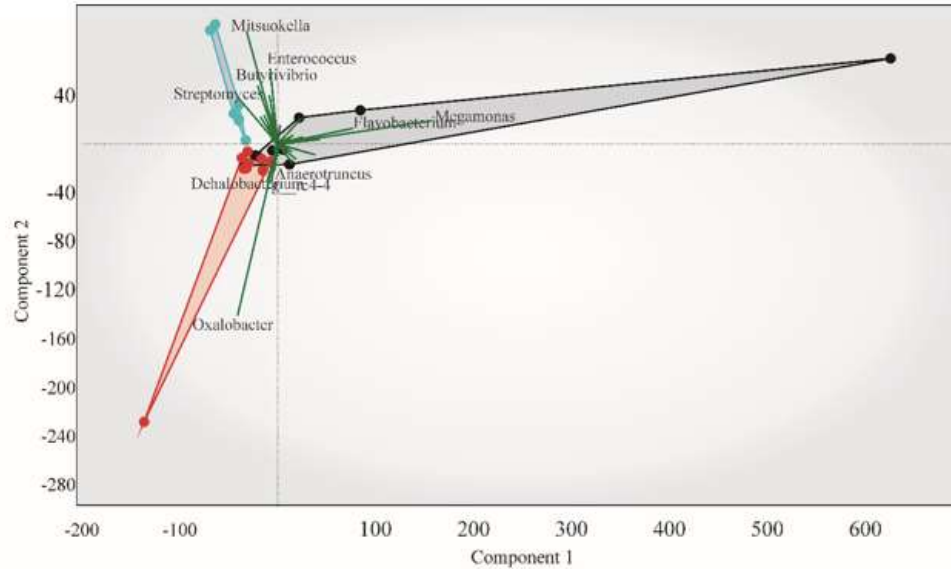
**.A)** Dieta cetogénica (Coordinada1 22.8 %; Coordinada2 9.2 %) **B)** Dieta mediterránea (Coordinada1 32.6 %; Coordinada2 12.5 %) . Los puntos negros representan los valores de los pacientes antes del tratamiento; los rojos al término y los azules tres meses y medio después de concluirlo.

Los ACP basados en los datos de abundancia de las dietas cetogénica y mediterránea para los tiempos cero, tres y seis explicaron en las dos primeros componentes principales (CPs) el 100 % de la variación total de las variables originales el CP1 73.46% y CP2 26.54 %; CP1 67.19% y CP2 32.81% respectivamente.

El gráfico de dispersión correspondiente a la dieta cetogénica mostró que la estructura de las comunidades de los pacientes en los tres tiempos analizados fue diferente en su composición, ya que se recuperaron tres grupos discretos correspondientes a cada tiempo, los cuales pueden ser diferenciados por las “abundancias” de los géneros: *Megamonas* y *Haemophilus* para el tiempo cero; *Oxalobacter* en el tiempo tres y *Mitsuokella*, *Enterococcus*, *Butyrivibrio*, *Streptomyces* en el tiempo seis.

Se observó que antes de iniciar el tratamiento (tiempo cero) los pacientes presentaron mayor variación en la estructura de sus comunidades respecto de los tiempos tres y seis (mayor dispersión dentro del gráfico). Conforme terminaron la dieta la estructura de las comunidades fue menos variable entre pacientes y más similar, siendo el tiempo seis en el que los pacientes mostraron mayor similitud entre sus comunidades.



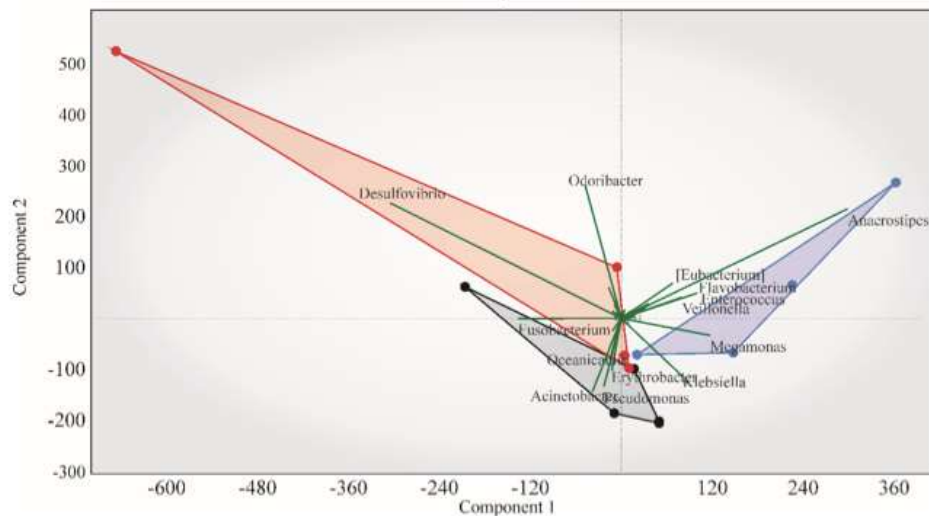


**Figura 23 Análisis de componentes principales basado en las matrices de abundancia de las comunidades microbianas de los pacientes de dieta cetogénica.**

(Componente1 73.46% ; Componente2 26.54 %) Los puntos negros representan las comunidades de los pacientes antes del tratamiento; los rojos al término y los azules tres meses y medio después de concluirlo.

Al igual que en el análisis de la dieta cetogénica las comunidades de los pacientes de la dieta mediterránea se recuperaron en tres diferentes grupos, los cuales pueden ser diferenciados por las “abundancias” de los géneros: *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Oceanicaulis* y *Erythrobacter* en el tiempo cero; *Desulfovibrio*, *Odoribacter* y *Flavobacterium* en el tiempo tres; y *Anaerostipes*, *Eubacterium*, *Enterococcus*, *Veillonella* y *Megamonas* en el tiempo seis.

Contrario al tratamiento cetogénico los pacientes presentaron comunidades más semejantes en su estructura en el tiempo cero. Sin embargo la intervención dietética generó mayor variación en la estructura de las comunidades en el tiempo tres. En el tiempo seis las comunidades de los pacientes fueron similares, diferente a lo observado en el tiempo cero.

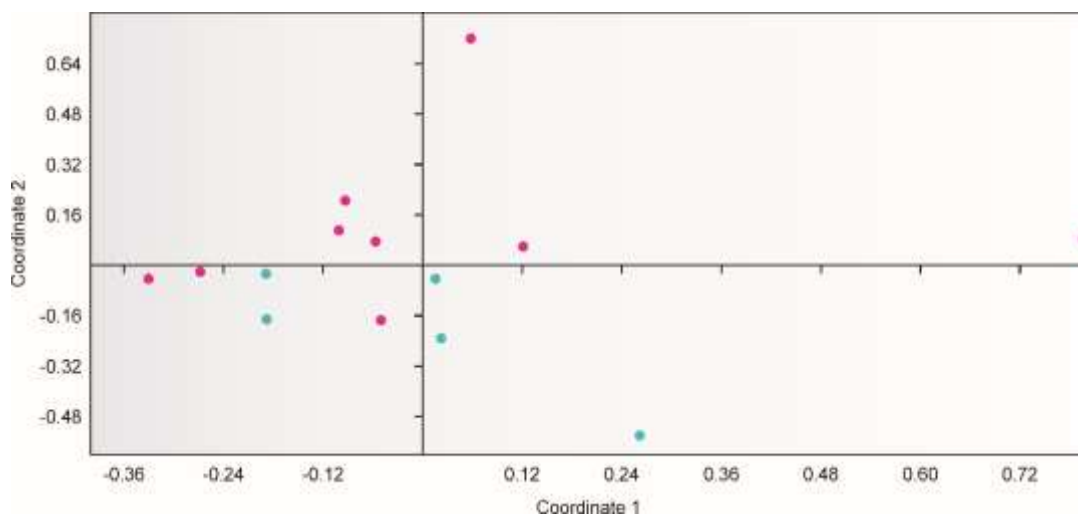


**Figura 24 Análisis de componentes principales basado en las matrices de abundancia de las comunidades microbianas de los pacientes de dieta mediterránea.**

(Componente1 32.81%; Componente2 67.19%). Los puntos negros representan las comunidades de los pacientes antes del tratamiento; los rojos al término y los azules tres meses y medio después de concluirlo.

Para conocer si las comunidades microbianas de los pacientes se modelaron de forma distinta respecto a una dieta u otra inmediatamente al término de las mismas (tiempo tres/semana nueve), se elaboró un ACoP utilizando las matrices de ausencia y presencia de la dieta cetogénica y de la mediterránea excluyendo aquellos grupos bacterianos para los cuales se compartían la ausencia o presencia entre ambas dietas. El ACoP explicó en las dos primeras coordenadas el 61.9% (CoP1 49.39% y CoP2 12.54%) del total de la variación de las variables originales.

El gráfico de dispersión de las coordenadas uno y dos comparando las comunidades microbianas de los pacientes en los tiempos tres (semana nueve) de ambas dietas mostró que dicha composición difirió entre los dos tratamientos, observándose en el gráfico de dispersión dos regiones en donde se posicionan los puntos que representan la comunidad microbiana de cada paciente para este tiempo. Aunque hubo dispersión entre todos los pacientes, se logran rescatar grupos parcialmente sobrelapados (Fig. 24).



**Figura 25** Análisis de coordinadas principales basado en las matrices de ausencia/presencia de las comunidades microbianas de los pacientes de dieta cetogénica y mediterránea al término de la dieta.

(Coordinada1 49.39%; Coordinada2 12.52%). Los puntos rosas representan las comunidades de los pacientes de dieta cetogénica; los puntos azules a las de la dieta mediterránea.

Estas diferencias entre las comunidades del grupo de dieta cetogénica y mediterránea se atribuyen a disminuciones (estadísticamente significativas) de los géneros *Dorea*, *Collinsella*, *Ruminococcus*, *Fusibacter*, *Sneathia*, *Veillonella*, *SMB53* ( $p \leq 0.05$ ) y *Blautia*, *Lachnobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium* y *Streptococcus* ( $p \leq 0.01$ ) en las comunidades de los pacientes de la dieta cetogénica. En la dieta mediterránea no se presentaron aumentos ni disminuciones por parte de estos géneros.

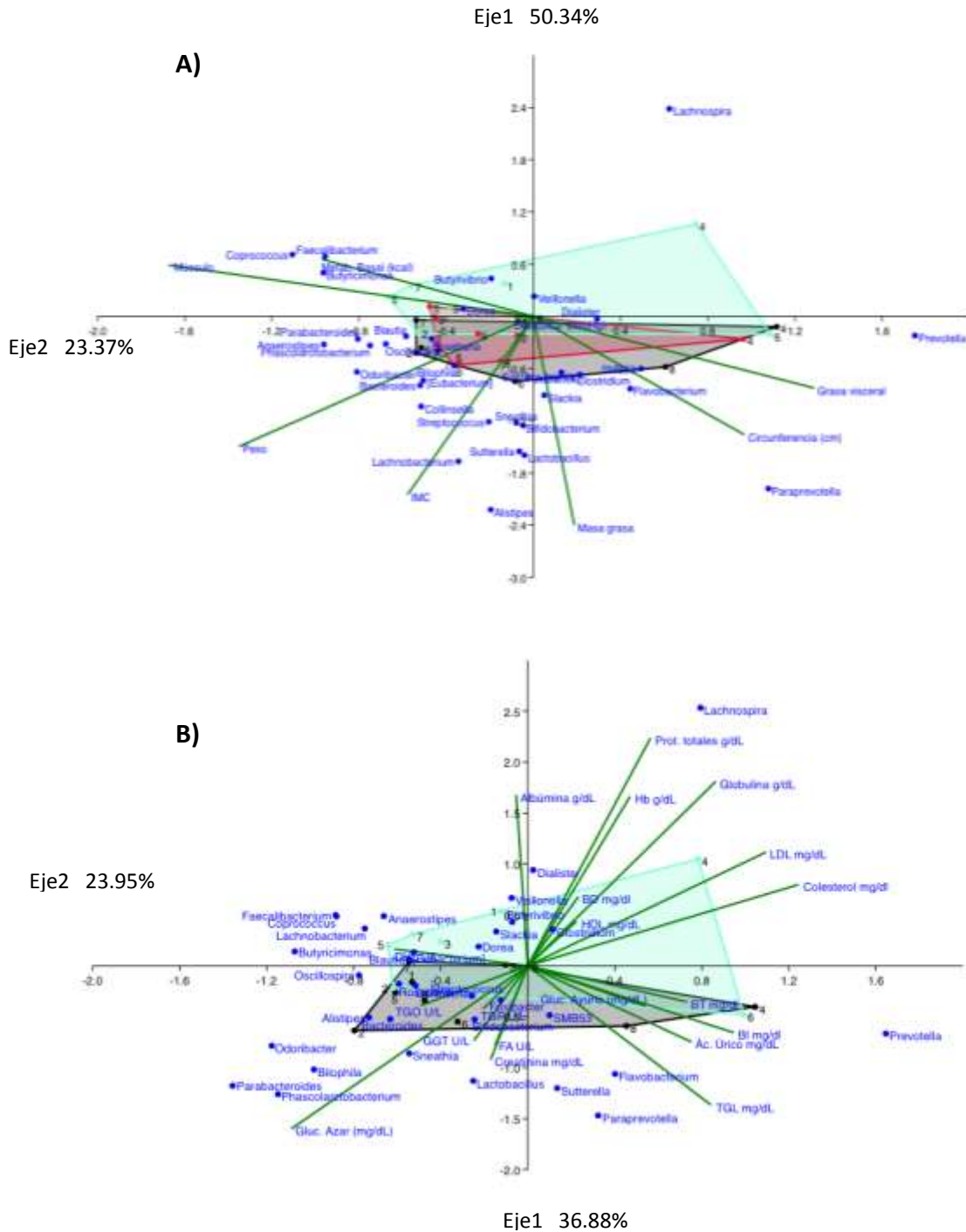
## **Relación entre Variables Antropométricas y Bioquímicas vs. Diversidad Microbiana**

Los análisis de correspondencias canónicas (ACC) mostraron que existen asociaciones entre los cambios de los perfiles antropométricos o bioquímicos y la estructura/composición de las comunidades de los pacientes a lo largo de los tiempos para cada dieta.

El ACC de la dieta cetogénica basado en la matriz de abundancias y el perfil antropométrico de los pacientes, cuantificó en sus dos primeros ejes canónicos el 73.71% del total de la variación de las variables originales (eje1 50.34% y eje2 23.37%). El gráfico de dispersión de estos ejes con la respectiva contribución de las variables antropométricas, mostró que las abundancias de los géneros *Prevotella*, *Paraprevotella*, *Flavobacterium* y *SMB53* están asociadas a pacientes con parámetros similares de grasa visceral y circunferencia de cintura. A su vez Las variables masa grasa, IMC y peso se asociaron a las abundancias de los géneros *Slackia*, *Lachnobacterium*, *Suterella*, *Alistipes*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Sneathia*, *Streptococcus*, *Collinsella*, *Eubacterium*, *Bacteroides*, *Odoribacter*, *Bllophila*, *Roseburia*, *Phascolarctobacterium*, *Anaesostipes*, *Parabacteroides* y *Blautia*. Mientras que las abundancias de los géneros *Dorea*, *Butyrivibrio*, *Butyricimonas* *Faecalibacterium* y *Coprococcus* estuvieron asociadas a los pacientes con metabolismo basal y masa muscular similar.

El ACC de la dieta cetogénica basado en la matriz de abundancias y el perfil bioquímico de los pacientes cuantificó en sus dos principales ejes canónicos el 60.83% del total de la variación de las variables originales (eje1 36.88% y eje2 23.95%). El gráfico de dispersión de estos ejes con la respectiva contribución de las variables mostró que las abundancias de los géneros *Veillonella*, *Dialister*, *Clostridium* y *Lachnospira* se asociaron a los pacientes que tuvieron variables bioquímicas similares: proteínas totales,

albúmina, globulina, hemoglobina , HDL, LDL, colesterol y bilirrubina directa. Las variables bilirrubina total, bilirrubina indirecta, ácido úrico, triglicéridos y glucosa en ayuno se asociaron a las abundancias de los géneros *Prevotella*, *Flavobacterium*, *Paraprevotella*, *SMB53* y *Suterella*. Por su parte, las abundancias de los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Fusibacter*, *Sneathia*, *Phascolarctobacterium*, *Parabacteroides*, *Bilophila*, *Odoribacter*, *Bacteroides*, *Alistipes*, *Oscillospira*, *Butyricimonas*, *Lachnobacterium*, *Coprococcus*, *Faecalibacterium*, *Streptococcus* y *Anaerostipes* estuvieron asociadas a los pacientes con los valores bioquímicos similares de: creatinina, glucosa al azar, proteínas GGT, TGP, TGO, deshidrogenasa láctica (DHL) y fosfatasa alcalina (FA).

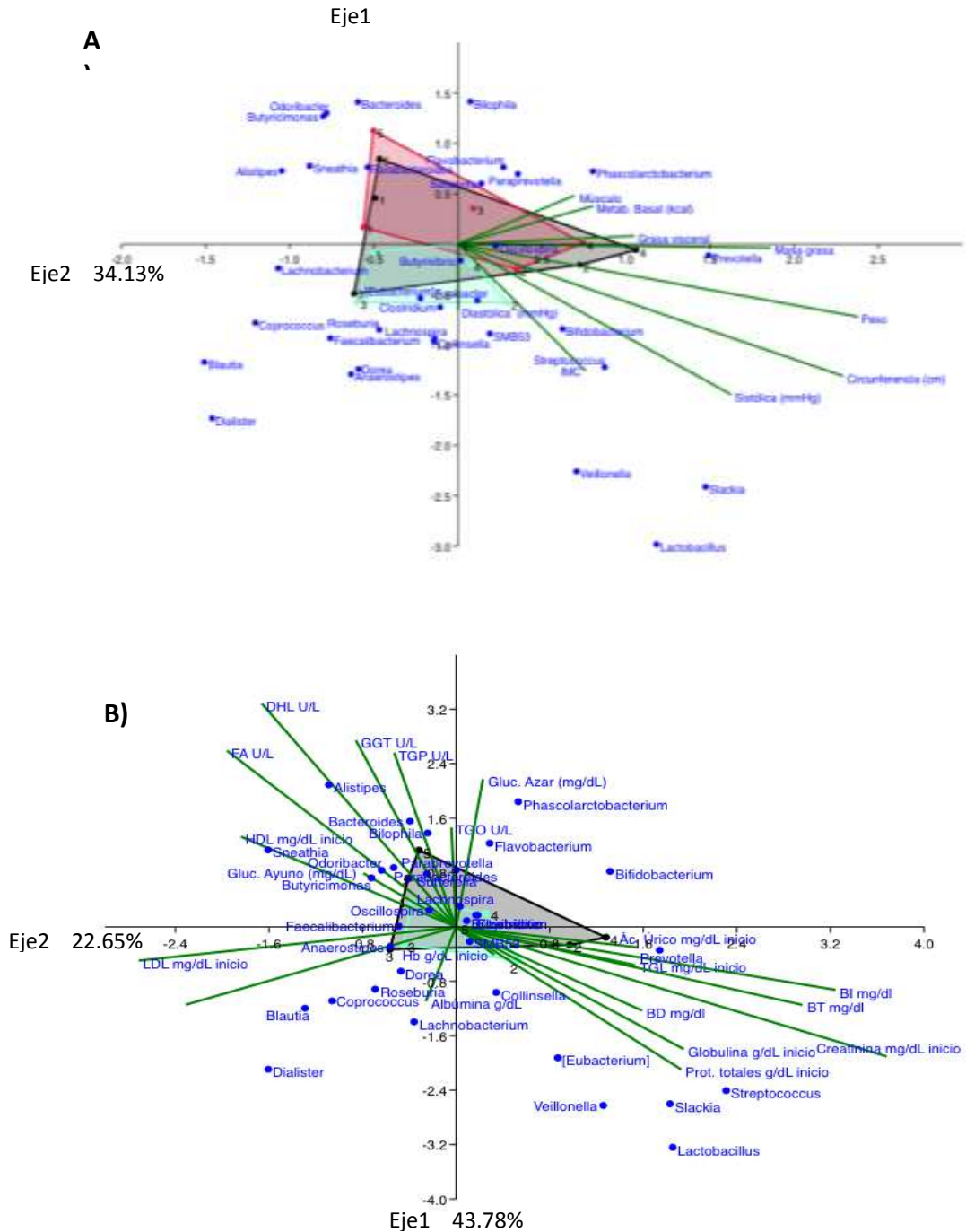


**Figura 26** Análisis de correspondencias canónicas basado en los perfiles antropométricos y bioquímicos del grupo de dieta cetogénica.

Análisis de correspondencias canónicas basado en los perfiles antropométricos **A)** y bioquímicos **B)** y las matrices de abundancias de las comunidades microbianas de los pacientes de dieta cetogénica. El área negra representa la distribución de los pacientes en el tiempo 0; el área roja a los pacientes en el tiempo 3; y el área azul 3 meses y medio post-dieta.

El gráfico de dispersión del ACC basado en la matriz de abundancias y el perfil antropométrico de los pacientes de la dieta mediterránea cuantificó en sus dos principales ejes canónicos el 76.7% del total de la variación de las variables originales (eje1 42.57% y eje2 34.13%). El gráfico de dispersión de estos ejes con la respectiva contribución de las variables mostró que las abundancias de los géneros *Phascolarctobacterium*, *Prevotella*, *Slackia*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Veillonella* y *Oscillospira* estuvieron asociados a los nueve parámetros antropométricos evaluados.

En el ACC basado en las variables bioquímicas y la matriz de abundancias de los pacientes de la dieta mediterránea, se pudo explicar el 66.43% del total de la variación de las variables originales en sus dos principales ejes canónicos (eje1 43.78% y eje2 22.65%); observándose que los pacientes con valores similares para: ácido úrico, triglicéridos, bilirrubina total, directa e indirecta; creatinina proteínas totales, y globulina estuvieron caracterizados por la presencia de los géneros: *Prevotella*, *Streptococcus*, *Slackia*, *Lactobacillus*, *Veillonella*, *Eubacterium* y *Bifidobacterium*. Por otra parte los géneros: *Dialister*, *Lachnobacterium*, *Coprococcus*, *Roseburia*, *Dorea*, *Blautia*, *Anaerostipes*, *Faecalibacterium*, *Oscillospira*, *Lachnospira*, *Butyrivibrio*, *Odoribacter*, *Sneathia*, *Bacteroides*, *Bilophila*, *Alistipes*, *Paraprevotella*, *Flavobacterium*, *Parabacteroides*, *Suterella* y *Phascolarctobacterium* se asociaron a los parámetros bioquímicos: albúmina, hemoglobina, LDL, HDL, glucosa en ayuno, glucosa al azar y las proteínas GGT, TGP TGO, FA Y DHL; para los cuales los pacientes fueron similares en sus valores.



**Figura 27 Análisis de correspondencias canónicas basado en los perfiles antropométricos y bioquímicos del grupo de dieta mediterránea.**

Análisis de correspondencias canónicas basado en los perfiles antropométricos **A)** y bioquímicos **B)** y las matrices de abundancias de las comunidades microbianas de los pacientes de dieta mediterránea. El área negra representa la distribución de los pacientes en el tiempo 0; el área roja a los pacientes en el tiempo 3; y el área azul 3 meses y medio post-dieta.



## IX. DISCUSIÓN

La composición y la estructura de la microbiota intestinal de pacientes con obesidad y diabetes tipo 2 se modificó por efecto de alteraciones en la dieta. Las modificaciones en los patrones de alimentación que fueron responsables de generar los cambios en las comunidades bacterianas consistieron en dos esquemas dietéticos que pueden ser considerados antagónicos, uno que proporcionó en un 50% la energía total requerida por una persona al día en forma de carbohidratos y otro carente de este macronutriente. Ambos esquemas se adecuaron para generar modificaciones en el perfil clínico de los pacientes con el objetivo de evaluar, en primera instancia, con cuál tratamiento se alteraba la estructura y composición de las comunidades bacterianas así como con cuál se observaban cambios más abruptos en los perfiles antropométricos y bioquímicos evaluados.

### **Datos clínicos**

El perfil antropométrico fue el que presentó cambios más drásticos por efecto de las dietas en comparación con el bioquímico. La dieta cetogénica fue la responsable de propiciar las modificaciones más importantes en estos perfiles, observándose que de las nueve variables antropométricas analizadas, siete presentaron cambios estadísticamente significativos. Lo anterior se evidencia con la recuperación de grupos bien diferenciados en los gráficos de dispersión de los análisis multivariados de datos antropométricos para la dieta cetogénica. La dieta mediterránea no fue capaz de modular drásticamente el perfil antropométrico, sin embargo los pacientes sí presentaron cambios a lo largo del tratamiento en variables como peso, masa grasa, grasa visceral y circunferencia de cintura.

Con respecto al perfil bioquímico, a pesar de que no todos los parámetros se modificaron significativamente en ninguna de las dos dietas,

los análisis multivariados mostraron que estas variables antes de iniciar el protocolo se mostraron muy diferentes en los gráficos (dispersas). Sin embargo, al finalizar las dietas se modelaron perfiles más similares entre pacientes. Aunque no se recuperaron grupos en los gráficos de dispersión, se observó que los pacientes, respecto a si mismos, mejoraron sus perfiles bioquímicos respondiendo cada uno de manera distinta al tratamiento. La glucosa, uno de los parámetros bioquímicos más importantes en este padecimiento, presentó disminuciones importantes. Cabe mencionar que con ambos regímenes, se redujo o eliminó la necesidad de utilizar tratamiento hipoglucemiante durante el protocolo y durante los tres meses y medio posteriores al mismo. Este tipo de mejoras en los niveles de glucosa se han observado en otros trabajos (Gannon & Nuttall, 2004) donde se analizaron tratamientos dietéticos no cetogénicos pero bajos en carbohidratos, a diferencia de que la evaluación de dicha intervención fue realizada solamente al término del tratamiento (cinco semanas), lo que no permite concluir que estas mejoras se posterguen incluso si la dieta no continua, contrario a lo que se logra observar en este trabajo tres meses y medio después de la dieta. Otros estudios (Davis *et al.*, 2009) han evaluado una intervención dietaria, también baja en carbohidratos, durante un año, contrastándola con una dieta baja en grasas y observando, al igual que en este estudio, que la dieta baja en carbohidratos fue la que presentó pérdidas de peso y disminución de glucosa en sangre de forma más importante, sobre todo durante los tres primeros meses de tratamiento. Sin embargo en dicho protocolo los pacientes continuaron utilizando tratamiento farmacológico, de forma contraria con este estudio, en el que los pacientes fueron capaces de mantener sus niveles de glucosa al azar y en ayuno dentro de los parámetros normales sin la necesidad de coadyuvantes.

### **Datos de diversidad**

Por otra parte, el análisis de la microbiota bacteriana a nivel de phylum mostró que los pacientes antes de iniciar el tratamiento tuvieron una relación

de *Firmicutes/Bacteroidetes* 1:1, lo cual contrasta con la relación 3:1 que se ha descrito, de forma no concluyente, en individuos “sanos” (Ley, Turnbaugh, Klein, & Gordon, 2006). Lo anterior concuerda con la teoría de disbiosis que establece que modificaciones en las relaciones de estos dos phyla, generan alteraciones que propician o son consecuencia de estados patológicos que se puede asociar con el fenotipo de obesidad y diabetes tipo 2 de estos pacientes (Brown, DeCoffe, Molcan, & Gibson, 2012); algunos estudios han encontrado asociado el enriquecimiento del grupo *Bacteroidetes* en individuos que sufren de diabetes tipo 1 y 2 tal como se observa en estos pacientes (Larsen *et al.*, 2010). A lo largo del tratamiento cetogénico se observaron modificaciones a este mismo nivel, instaurándose al término de la dieta la relación 3:1 antes mencionada, que concuerda con las mejoras en el perfil antropométrico de los pacientes. Esta relación también se observó en las comunidades de los pacientes de dieta mediterránea, sin embargo esto fue hasta el último tiempo analizado (tres meses y medio de concluir el tratamiento). En ambos tratamientos las abundancias relativas del phylum *Proteobacteria* disminuyeron, lo cual concuerda con un estudio reciente de Shin y colaboradores (2015) en donde analizan la recurrencia de este phylum en diversos estados fisiológicos, puntualizando que la colonización de *Proteobacteria* se asocia a una comunidad microbiana inestable, siendo la obesidad un estado en el que dicha estabilidad se encuentra comprometida volviendo más proclive para la colonización de este phylum, pero conforme el individuo revierte este fenotipo mejorando sus parámetros clínicos, su colonización baja, justo como vemos en este estudio (Shin, Whon, & Bae, 2015).

Al analizar la diversidad de las comunidades, los tratamientos fueron capaces de modificar las abundancias. En este sentido, al comparar la abundancia a nivel de género entre ambos grupos, se observó que la dieta cetogénica de forma general tuvo mayor riqueza, sin embargo esto no se adjudica exclusivamente al tratamiento, ya que de primera instancia los

individuos de este grupo comenzaron con abundancias distintas respecto al grupo de dieta mediterránea. Se observó que para la dieta cetogénica en las primeras semanas de tratamiento disminuyó notablemente la diversidad microbiana, lo cual se asocia a la restringida posibilidad de consumo de alimentos dado al régimen cetogénico tan estricto. Conforme el organismo se adecuó al tipo de dieta y a la paulatina incorporación de más grupos de alimentos, sobre todo de tipo graso y de origen animal, la diversidad aumentó de forma similar a como se encontraba antes de comenzar la dieta. De forma contraria, en la dieta mediterránea la diversidad se vio favorecida por el tratamiento, notándose aumentos que pudieran explicarse por la incorporación de una gran variedad de alimentos proporcionados en los menús, los cuales no formaban parte del consumo habitual de los pacientes.

De acuerdo al análisis de coordenadas principales el perfil de la microbiota al inicio del tratamiento cetogénico fue notablemente diferente, esto es, la microbiota de los pacientes antes de iniciar el protocolo era muy disímil, posterior a la dieta las comunidades de los pacientes disminuyeron su variación mostrándose menos dispersa a lo largo del gráfico tanto para el tiempo tres y seis, lo que sugiere que la alimentación logró modular un perfil similar entre los pacientes. De forma contraria la microbiota del grupo de dieta mediterránea comenzó el protocolo con un perfil con poca variabilidad, volviéndose más diferentes luego de la intervención. Al hacer la comparación entre los tiempos tres de ambas dietas, podemos observar en el gráfico de ACoP basado en las matrices de ausencia/presencia, la diferenciación de dos grupos discretos (Fig. 24. Puntos rosas, dieta cetogénica; puntos azules, dieta mediterránea) que denota la diferentes composiciones de la microbiota de los pacientes que se propician por efecto de un tratamiento dietético.

Con los análisis de correspondencias canónicas se observaron que ciertos grupos de bacterias se asocian a modificaciones de variables antropométricas y bioquímicas. *Phascolarctobacterium*, *Prevotella*, *Slackia*,

*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* fueron algunos géneros relacionados a las modificaciones del peso, IMC, masa grasa y glucosa, esto es consistente por su coincidencia en ambos grupos. Lo anterior concuerda totalmente con la asociación en la presencia de *Phascolarctobacterium* que produce, a partir de los metabolitos de otras bacterias, propionato, ácido graso de cadena corta relacionado con la homeostasis de glucosa y energía; y mejoras en la sensibilidad a la insulina, fenómeno observado en los pacientes.

La persistencia de los géneros *Bacteroides*, *Blautia*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Faecalibacterium*, *Fusibacter*, *Parabacteroides*, *Paraprevotella*, *Roseburia*, *Ruminococcus*, *Lachnospira* y *Prevotella* en ambas dietas y a través de los diferentes tiempos analizados, sugiere la presencia de un core en la microbiota bacteriana. Estos dos últimos géneros se conocen por estar asociados a la ingesta de dietas basadas en vegetales (De Filippis *et al.*, 2015), ingredientes claves en ambos de los tratamientos implementados en este estudio. Sin embargo, durante la dieta cetogénica hubo un incremento en la riqueza, por tanto en la dominancia, de los géneros *Bacteroides*, *Prevotella*, *Parabacteroides*, *Faecalibacterium*, *Lachnospira* y *Ruminococcus*, mientras que para la dieta mediterránea se observaron primordialmente dominantes los géneros *Parabacteroides* y *Prevotella*. Sin embargo considerando exclusivamente los tiempos inmediatos al término de las dietas (semana 9) se logra observar en forma contrastante que se presentó una disminución significativa de los géneros *Dorea*, *Collinsella*, *Ruminococcus*, *Fusibacter*, *Sneathia*, *Veillonella*, *SMB53*, *Blautia*, *Lachnobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium* y *Streptococcus* en las comunidades bacterianas de los pacientes de la dieta cetogénica sin modificaciones algunas de estos géneros en la dieta mediterránea.

La disminución de estos géneros se relaciona con la transición hacia una dieta cetogénica carente de carbohidratos sobre todo del tipo simples.

Géneros como *Dorea* y *Blautia* presentan una relación de simbiosis. *Dorea* es uno de los principales productores de gas intestinal a partir de la fermentación de glucosa, generando como metabolitos secundarios hidrógeno y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), que sirven de sustrato para *Blautia* para la producción del ácido graso de cadena corta (AGCC) ácido acético (Rajilić-Stojanović & de Vos, 2014). De esta forma, la disminución de este macronutriente (carbohidratos) lleva a la baja disponibilidad de azúcares al intestino para ser utilizados por *Streptococcus*, importante productor de lactato, utilizado por los géneros *Collinsella* y *Veillonella* como principal fuente de fermentación (Booijink *et al.*, 2010; Kovatcheva-Datchary *et al.*, 2009). Este último también utiliza como sustrato acetato para producir el AGCC propionato conocido por sus efectos benéficos con potencial antiinflamatorio, rol en la sensación de saciedad, influencia en la homeostasis de glucosa y energía y mejora la sensibilidad a la insulina (Rajilić-Stojanović & de Vos, 2014).

La baja abundancia del género *Eubacterium* se ha asociado a un estado de salud comprometido característico de personas que sufren de diabetes tipo 2 (Qin *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012). Este género es productor del AGCC butirato, uno de los AGCC con mayores efectos promotores de salud tanto general como de la propia microbiota intestinal bacteriana. El género *Ruminococcus* también disminuyó su abundancia al término del tratamiento, sugerentemente por efecto de la dieta cetogénica que eliminó su principal sustrato metabólico, el almidón; sin embargo la facultad celulolítica del género le permite persistir en el intestino enriquecido con vegetales ricos en celulosa provistos por esta dieta (Rajilić-Stojanović & de Vos, 2014).

Por todo lo anterior debe entenderse la simbiosis establecida entre los géneros bacterianos que constituyen la comunidad microbiana intestinal. Cómo la eliminación de un sustrato de la dieta propicia la disminución en la abundancia relativa de ciertos géneros, lo cual a su vez condiciona la disminución de otros géneros que dependen de los sustratos de las bacterias

que se ven afectadas por la dieta. Estos géneros son probablemente los más responsivos ante la súbita disminución de carbohidratos provenientes de la dieta lo cual se acompaña con mejoras en el perfil antropométrico de los pacientes. Dichos géneros pudieran estar relacionados con la facultad de utilizar con mayor eficiencia la energía contenida en los carbohidratos favoreciendo el fenotipo de obesidad y empeorando el estado de diabetes tipo 2 por la mayor cantidad de azúcares absorbidos en el tracto digestivo o por la concomitante producción de AGCCs, los cuales juegan un rol preponderante en la activación de rutas de señalización así como de rutas metabólicas, por ejemplo las lipogénicas.

## X. CONCLUSIONES

Ambos tratamientos dietéticos utilizados en el protocolo disminuyeron los parámetros antropométricos y algunos bioquímicos de los pacientes con obesidad y diabetes tipo 2. La dieta cetogénica fue la que logró disminuir importantemente todos los valores antropométricos analizados. Los niveles de glucosa en sangre de los pacientes se lograron mantener dentro de los parámetros “normales” sin la necesidad de utilizar fármacos hipoglucemiantes. Todos estos cambios se lograron mantener tres meses y medio después de concluir los regímenes.

Las comunidades microbianas bacterianas de los pacientes de dieta cetogénica disminuyeron las disimilitudes observadas al inicio del protocolo, se volvieron más similares por efecto del tratamiento. De forma contraria, las comunidades de los pacientes del grupo de dieta mediterránea aumentaron su dispersión, mostrando más variaciones entre sus comunidades.

Los pacientes de dieta cetogénica, al término de la misma, tuvieron una relación de *Firmicutes/Bacteroidetes* 3:1 tal como se asocia a un perfil en normopeso; los pacientes de dieta mediterránea lograron esta relación hasta 3 meses y medio después de concluir el tratamiento.

La dieta cetogénica tuvo mayor riqueza y abundancia con respecto a la dieta mediterránea y fue capaz de aumentar la dominancia, a lo largo del tratamiento, de ciertas bacterias como: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Parabacteroides*, *Faecalibacterium*, *Lachnospira* y *Ruminococcus*.

Los géneros *Dorea*, *Collinsella*, *Ruminococcus*, *Fusibacter*, *Sneathia*, *Veillonella*, *SMB53*, *Blautia*, *Lachnobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium* y *Streptococcus* disminuyeron significativamente al término de la dieta cetogénica, a la par con las mejoras en el perfil antropométrico, siendo los géneros más responsivos a la restricción de carbohidratos.



## **XI.PERSPECTIVAS**

Algunas de las perspectivas a desarrollar para enriquecer el trabajo es la cuantificación de los ácidos grasos de cadena corta: acetato, propionato y butirato presentes en las muestras, mediante técnica de HPLC y asociarlos a los perfiles clínicos de los pacientes así como a la microbiota.

Hacer predicciones en relación a las rutas metabólicas bacterianas favorecidas o perjudicadas por el aumento o disminución de los géneros bacterianos intestinales influenciados por efecto de las dietas; asociarlo con los fenotipos de los pacientes y la cantidad de AGCCs presentes en las heces.

## XII.BIBLIOGRAFÍA

- Barquera, S., & Dommarco, J. R. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Evidencia para la política pública en Salud. Obesidad en adultos: los retos de la cuesta abajo. Instituto Nacional de Salud Pública. Recuperado a partir de <http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/ObesidadAdultos.pdf>
- Bays, H. E., González-Campoy, J. M., Bray, G. A., Kitabchi, A. E., Bergman, D. A., Schorr, A. B., ... Henry, R. R. (2008). Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 6(3), 343-368. <http://doi.org/doi:10.1586/14779072.6.3.343>
- Blacker, C. P. (1936). Food, health and income. A report of a survey of adequacy of diet in relation to income. *Eugen Rev*, 28(3), 228-229.
- Booijink, C. C. G. M., El-Aidy, S., Rajilic-Stojanovic, M., Heilig, H. G. H. J., Troost, F. J., Smidt, H., ... Zoetendal, E. G. (2010). High temporal and inter-individual variation detected in the human ileal microbiota. *Environmental Microbiology*, 12(12), 3213-3227. <http://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02294.x>
- Brown, K., DeCoffe, D., Molcan, E., & Gibson, D. L. (2012, agosto). Diet-Induced Dysbiosis of the Intestinal Microbiota and the Effects on Immunity and Disease. *Nutrients*. <http://doi.org/10.3390/nu4081095>
- Caballero, B. (2007). The Global Epidemic of Obesity: An Overview. *Epidemiologic Reviews*, 29(1), 1-5. <http://doi.org/10.1093/epirev/mxm012>
- Cardinelli, C. S., Sala, P. C., Alves, C. C., Torrinhas, R. S., & Waitzberg, D. L. (2015). Influence of intestinal microbiota on body weight gain: a narrative review of the literature. *Obesity Surgery*, 25(2), 346-353. <http://doi.org/10.1007/s11695-014-1525-2>
- Chan, R. S. M., & Woo, J. (2010). Prevention of Overweight and Obesity: How Effective is the Current Public Health Approach. *Int J Environ Res Public Health*, 7(3), 765-783. <http://doi.org/10.3390/ijerph7030765>
- Dashti, H. M., Mathew, T. C., Hussein, T., Asfar, S. K., Behbahani, A., Khoursheed, M. A., ... Al-Zaid, N. S. (2004). Long-term effects of a ketogenic diet in obese patients. *Exp Clin Cardiol*, 9(3), 200-205. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2716748/pdf/ecc09200.pdf>
- Davis, N. J., Tomuta, N., Schechter, C., Isasi, C. R., Segal-Isaacson, C. J., Stein, D., ... Wylie-Rosett, J. (2009). Comparative Study of the Effects of a 1-Year Dietary Intervention of a Low-Carbohydrate Diet Versus a Low-Fat Diet on Weight and Glycemic Control in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 32(7), 1147-1152. <http://doi.org/10.2337/dc08-2108>
- De Filippis, F., Pellegrini, N., Vannini, L., Jeffery, I. B., La Stora, A., Laghi, L., ... Ercolini, D. (2015). High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut*. <http://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309957>
- DiBaise, J. K., Zhang, H., Crowell, M. D., Krajmalnik-Brown, R., Decker, G. A., & Rittmann, B. E. (2008). Gut microbiota and its possible relationship with

- obesity. *Mayo Clinic Proceedings*, 83(4), 460-469.  
<http://doi.org/10.4065/83.4.460>
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., ... Relman, D. A. (2005). Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science*, 308(5728), 1635-1638. <http://doi.org/10.1126/science.1110591>
- Eckel, R. H., Kahn, S. E., Ferrannini, E., Goldfine, A. B., Nathan, D. M., Schwartz, M. W., ... Smith, S. R. (2011). Obesity and Type 2 Diabetes: What Can Be Unified and What Needs to Be Individualized? *Diabetes Care*, 34(6), 1424-1430. <http://doi.org/10.2337/dc11-0447>
- Food Research and Action Center (FRAC). (2010). Why Low-Income and Food Insecure People are Vulnerable to Overweight and Obesity. *Food Research and Action Center*. Washington, DC, USA.
- Gannon, M. C., & Nuttall, F. Q. (2004). Effect of a High-Protein, Low-Carbohydrate Diet on Blood Glucose Control in People With Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 53(9), 2375-2382. Recuperado a partir de <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/53/9/2375.abstract>
- Guh, D. P., Zhang, W., Bansback, N., Amarsi, Z., Birmingham, C. L., & Anis, A. H. (2009). The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*, 9, 88. <http://doi.org/10.1186/1471-2458-9-88>
- Hainerova, I. A. (2010). Genetics of obesity. *Vnitr Lek*, 56(10), 1035-1042.
- Hameed, I., Masoodi, S. R., Mir, S. A., Nabi, M., Ghazanfar, K., & Ganai, B. A. (2015). Type 2 diabetes mellitus: From a metabolic disorder to an inflammatory condition. *World J Diabetes*, 6(4), 598-612. <http://doi.org/10.4239/wjd.v6.i4.598>
- Hawrelak, J. A., & Myers, S. P. (2004). The causes of intestinal dysbiosis: a review. *Altern Med Rev*, 9(2), 180-197.
- Hite, A. H., Berkowitz, V. G., & Berkowitz, K. (2011). Low-carbohydrate diet review: shifting the paradigm. *Nutr Clin Pract*, 26(3), 300-308. <http://doi.org/10.1177/0884533611405791>
- Hotamisligil, G. S., & Erbay, E. (2008). Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nat Rev Immunol*, 8(12), 923-934. Recuperado a partir de <http://dx.doi.org/10.1038/nri2449>
- Johnstone, A. M., Horgan, G. W., Murison, S. D., Bremner, D. M., & Lobley, G. E. (2008). Effects of a high-protein ketogenic diet on hunger, appetite, and weight loss in obese men feeding ad libitum. *Am J Clin Nutr*, 87(1), 44-55. Recuperado a partir de <http://ajcn.nutrition.org/content/87/1/44.abstract>
- Kovatcheva-Datchary, P., Egert, M., Maathuis, A., Rajilic-Stojanovic, M., de Graaf, A. A., Smidt, H., ... Venema, K. (2009). Linking phylogenetic identities of bacteria to starch fermentation in an in vitro model of the large intestine by RNA-based stable isotope probing. *Environmental Microbiology*, 11(4), 914-926. <http://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01815.x>
- Kuczynski, J., Lauber, C. L., Walters, W. A., Parfrey, L. W., Clemente, J. C., Gevers, D., & Knight, R. (2012). Experimental and analytical tools for studying the human

- microbiome. *Nature Reviews. Genetics*, 13(1), 47-58.  
<http://doi.org/10.1038/nrg3129>
- Larsen, N., Vogensen, F. K., van den Berg, F. W. J., Nielsen, D. S., Andreasen, A. S., Pedersen, B. K., ... Jakobsen, M. (2010). Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*, 5(2), e9085.  
<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0009085>
- Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S., & Gordon, J. I. (2006). Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444(7122), 1022-1023.  
<http://doi.org/10.1038/4441022a>
- Malnick, S. D. H., & Knobler, H. (2006). *The medical complications of obesity* (Vol. 99). <http://doi.org/10.1093/qjmed/hcl085>
- McDonald, D., Price, M. N., Goodrich, J., Nawrocki, E. P., DeSantis, T. Z., Probst, A., ... Hugenholtz, P. (2012, marzo). An improved Greengenes taxonomy with explicit ranks for ecological and evolutionary analyses of bacteria and archaea. *The ISME Journal*. <http://doi.org/10.1038/ismej.2011.139>
- National Institute of Health (NHLBI). (2012). National Institute of Health (NHLBI). *What Are the Health Risks of Overweight and Obesity? USA*.
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A., & Olokoba, L. B. (2012). Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Med J*, 27(4), 269-273.  
<http://doi.org/10.5001/omj.2012.68>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2015). Organización Mundial de la Salud (OMS). Recuperado a partir de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
- Qin, J., Li, Y., Cai, Z., Li, S., Zhu, J., Zhang, F., ... Wang, J. (2012). A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 490(7418), 55-60. <http://doi.org/10.1038/nature11450>
- Rajilić-Stojanović, M., & de Vos, W. M. (2014, septiembre). The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. *Fems Microbiology Reviews*. Oxford, UK. <http://doi.org/10.1111/1574-6976.12075>
- Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., & Jiménez-Corona, A. (2012). Optimal cutoff points for the detection of undiagnosed type 2 diabetes, hypertension and metabolic syndrome in Mexican adults. *Salud Pública de México*, 54, 13-19. Recuperado a partir de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342012000100003&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342012000100003&nrm=iso)
- Rothberg, J. M., Hinz, W., Rearick, T. M., Schultz, J., Mileski, W., Davey, M., ... Bustillo, J. (2011). An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature*, 475(7356), 348-352.  
<http://doi.org/10.1038/nature10242>
- Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C., & Finlay, B. B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*, 90(3), 859-904.  
<http://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009>
- Shin, N. R., Whon, T. W., & Bae, J. W. (2015). Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends Biotechnol*, 33(9), 496-503.

- <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.06.011>
- Stein, Q. P., Mroch, A. R., De Berg, K. L., & Flanagan, J. D. (2011). The influential role of genes in obesity. *S D Med, Spec No*, 12-15,17.
- Turk, M. W., Yang, K., Hravnak, M., Sereika, S. M., Ewing, L. J., & Burke, L. E. (2009). Randomized Clinical Trials of Weight-Loss Maintenance: A Review. *J Cardiovasc Nurs*, 24(1), 58-80. <http://doi.org/10.1097/01.jcn.0000317471.58048.32>
- Wang, T., Cai, G., Qiu, Y., Fei, N., Zhang, M., Pang, X., ... Zhao, L. (2012). Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *The ISME Journal*, 6(2), 320-329. <http://doi.org/10.1038/ismej.2011.109>
- Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L., & Ferrante Jr., A. W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1796-1808. <http://doi.org/10.1172/JCI19246>
- World Health Organization (WHO). (2000). *World Health Organization (WHO) (2001/03/10 ed.). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation (Vol. 894)*. World Health Organ Tech Rep Ser.
- World Health Organization (WHO). (2010). Diabetes (Fact sheet No. 312). Recuperado a partir de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html>
- World Obesity Federation. (2014). World Obesity Federation. Recuperado a partir de <http://www.worldobesity.org/aboutobesity/world-map-obesity/>
- Yang, J., Farioli, A., Korre, M., & Kales, S. N. (2014). Modified Mediterranean diet score and cardiovascular risk in a North American working population. *PLoS ONE*, 9(2), e87539. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0087539>

### XIII.ANEXOS

## ANEXO A. Cronograma de actividades del proyecto de investigación

CRONOGRAMA  
 "Seguimiento de la variabilidad de la microbiota intestinal durante un tratamiento con dieta cetogénica para control de peso en  
 pacientes con obesidad y Diabetes tipo 2"  
 Ciclo 2015-2016

2015 2016	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO
<b>Introducción a trabajo de laboratorio</b>																	
<b>Redacción de protocolo y presentación de seminario de evaluación</b>																	
<b>Preparación de material y requisitos para inicio de protocolo</b>																	
<b>Objetivo 1 Selección pacientes candidatos</b>																	
<b>Objetivo 2 Recolección y procesamiento de muestra</b>																	
Muestreo 1																	
Extracción de DNA																	
Muestreo 2																	
Extracción de DNA																	
Muestreo 3																	
Extracción de DNA																	
Muestreo 4																	
Extracción de DNA																	

2015 2016	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO
Muestreo 5																	
Extracción de DNA																	
Muestreo 6 y 7																	
Extracción de DNA																	
<b>Objetivo 3 Secuenciación de muestras de DNA</b>																	
Muestras 1, 2 y 3																	
Muestras 4, 5, 6,7																	
<b>Objetivo 4 Realizar el análisis de datos metagenómicos</b>																	
Análisis de datos QIIME																	
Análisis de datos generales																	
<b>Escritura de tesis</b>																	

## ANEXO B. Instrucciones para toma de muestra de copro

### Instrucciones para toma de muestra de heces en el baño de su casa

- Debe proveérsele un **recipiente limpio** para colectar la muestra y una **palita** (en caso de requerir un cómodo hospitalario, solicítelo a su médico).
- Para la recolección de la muestra se requiere **plástico para envolver** (del transparente empleado en la cocina) en caso de no contar con él puede utilizar un **cómodo hospitalario** provisto previamente.
- Tome la muestra de heces un día antes a su siguiente cita



Las heces contienen material que propaga enfermedades por ello **lave sus manos antes y después** del procedimiento.

Indicaciones:

- 1) Rotule el frasco con su nombre
- 2) Orine **previamente** en otro lado antes de colectar la muestra de heces. **Evite** orinar durante su evacuación para no contaminar la muestra de heces con orina.
- 3) Levante la tapa y el asiento del baño y cubra la taza con 2 pedazos largos del plástico envolvente, dejando ligeramente hundido en el centro, baje el asiento para asegurar el plástico.
- 4) Evacúe sobre el plástico.

\* Alternativamente, puede evacuar directamente sobre el frasco o utilizando el cómodo hospitalario limpio previamente colocado encima de una silla o taza del baño.

- 5) Coloque su muestra directamente del plástico (o del cómodo) dentro del recipiente para muestra utilizando la palita **sin importar el tipo de consistencia** que tenga.  
Llene el frasco aproximadamente a la mitad de su capacidad y cierre con firmeza.

\* **Evite** que las heces tengan contacto con agua, papel o jabón.

- 6) Retire el plástico de la taza del baño y haga un nudo en la parte superior para desecharlo en el bote de basura. Si utilizó cómodo hospitalario, retire las heces con papel y proceda a lavarlo con agua y jabón.
- 7) Lave sus manos. Coloque el recipiente en una bolsa de plástico y manténganlo en **refrigeración** máximo 24 horas antes de su siguiente cita.

1)



5)



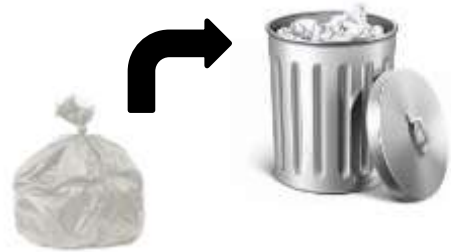
2)



3)



6



4)



7)



O BIEN USE :





## ANEXO C. Consentimiento informado para los pacientes

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### Título del proyecto:

SEGUIMIENTO DE LA VARIABILIDAD DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DURANTE UN TRATAMIENTO CON DIETA CETOGÉNICA PARA CONTROL DE PESO EN PACIENTES CON OBESIDAD Y DIABETES MELLITUS TIPO 2

#### Investigadores Principales:

DR. JAIME GARCÍA MENA, DR. VÍCTOR MARTÍNEZ SILVA, DRA. VIRGINIA SAMANIEGO MÉNDEZ  
[jgmena@cinvestav.mx](mailto:jgmena@cinvestav.mx)

Le estamos invitando a participar en un estudio realizado por el Hospital Ángeles Lindavista y el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. El objetivo es observar la variabilidad de la microbiota intestinal de pacientes con obesidad y diabetes mellitus tipo 2 generada por un régimen dietético cetogénico que permita generar mayor información acerca de los perfiles microbianos que pudieran estar relacionados con la promoción de la obesidad. En este estudio no se le realizará ningún tratamiento diferente a los que actualmente se implementan para el tratamiento de la obesidad.

Usted cumple con los parámetros que se solicitan para entrar en el estudio, un IMC >29 kg/m<sup>2</sup> y diagnóstico no mayor de cinco años de diabetes mellitus tipo 2, como características principales. El tratamiento estándar para casos como el de usted es la implementación de un régimen dietético hipocalórico, que puede consistir en diferentes esquemas dietéticos, uno **mediterráneo** que consiste en el consumo de vegetales frescos, aceites crudos, cereales integrales, bajo en grasas saturadas, guardando una relación de macronutrientes convencional (55% carbohidratos, 15% proteínas y 30% grasas). Otro esquema es el **cetogénico** que consta en disminuir abruptamente el consumo de carbohidratos en la dieta incrementando alimentos ricos en proteína y origen vegetal con modificaciones en los porcentajes convencionales de macronutrientes (13% carbohidratos, 77% proteínas y 10% de grasas). Las dietas hipocalóricas garantizan una disminución de peso, que va acompañado de mejoras en las comorbilidades de la obesidad.

Si usted acepta participar le solicitaremos que nos permita estudiar muestras de heces que se le estarán solicitando conforme asista a sus citas al hospital y siga un apego de por lo menos el 80% en su régimen dietético. Este estudio nos permitirá conocer y avanzar en el desarrollo de nuevos conocimientos para tratar o prevenir la obesidad.

Para este estudio se espera que se incluyan 20 pacientes tratados en el Hospital Ángeles Lindavista de México. Su participación es absolutamente voluntaria y si usted no acepta participar no se afectará su atención médica.

#### PROCEDIMIENTOS DEL PROTOCOLO DEL ESTUDIO

Si usted acepta participar, se almacenará una muestra de heces que usted proporcionaría conforme asista a sus respectivas citas al hospital de acuerdo a un instructivo y material que se le proporcionará. Las heces se almacenarán en refrigeración para ser transportadas en un contenedor con hielo. La muestra se transportará hasta las instalaciones del Laboratorio de Referencia y Apoyo para Caracterización de Genomas, Transcriptomas y Microbiomas del Departamento de Genética y Biología Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN Unidad Zacatenco en donde será procesada para realizar los estudios pertinentes.

La muestra se trabajará en condiciones asépticas dentro de un gabinete de bioseguridad Clase II, Tipo A2. En primer lugar se homogeneizará y generarán alícuotas que serán congeladas a -70 °C para su posterior tratamiento. A continuación una parte se utilizará para realizar extracción de DNA microbiano implementando técnicas moleculares de extracción. Finalmente, se utilizará secuenciación masiva con tecnología semiconductora de iones, que como último paso requiere un análisis bioinformático de datos mediante el uso de un software especial.

Cuando los análisis finalicen se obtendrán las poblaciones microbianas representativas para cada muestra de heces que permitirá, mediante posteriores análisis de datos, establecer asociaciones entre las diferentes tipos de dietas y estas poblaciones bacterianas. También se realizarán estudios sobre ácidos grasos de cadena corta que están contenidos en las heces, de forma que nos permita determinar la capacidad fermentativa de la microbiota de los pacientes.

## **RESPONSABILIDADES DEL PACIENTE**

Al aceptar participar usted en este estudio, se compromete a lo siguiente:

1. Autorizar la revisión del expediente clínico, únicamente con fines de investigación. La información que proporcione será estrictamente confidencial, es decir que sólo se usará con fines de investigación. Para garantizar la confidencialidad de la información, únicamente el investigador responsable tendrá acceso a la información correspondiente a su nombre y dirección.
2. Permitir que las muestras se guarden en el Repositorio de Muestras Biológicas en el Departamento de Genética y Biología Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN Unidad Zacatenco. El resguardo estará a cargo del Dr. Jaime García Mena. Una vez que se hayan recibido, procesado y almacenado las muestras biológicas, el archivo estará disponible únicamente para los investigadores que participan en este proyecto.

Si las muestras no se encuentran en condiciones necesarias para realizar las pruebas para este estudio o si usted retira su consentimiento para participar en este del estudio, se finalizará su participación en el mismo.

## **RIESGOS Y MOLESTIAS ESPERABLES**

En cuanto a los riesgos relacionados a la toma de la muestra de heces, mientras lave sus manos con abundante agua y jabón después del procedimiento no hay mayor relevancia en cuanto a riesgos, puede existir incomodidad de su parte por el manejo de este tipo de muestra, que si sigue lo indicado en el instructivo que se le proporcionará se espera no sea tan molesto.

Fuera de esto usted al participar en este estudio **NO TIENE NINGÚN RIESGO** adicional que el condicionado por su propia enfermedad y los tratamientos que requiera como parte del manejo de la obesidad y sus comorbilidades. Su participación en este estudio no interferirá en su estilo de vida, ni costumbres, ni en sus tratamientos cualquier modificación en éstos son resultado del régimen, que de forma general habrían sido implementados igualmente con la finalidad de lograr mejorar su condición mediante una pérdida importante de peso.

### **BENEFICIOS**

Los resultados del presente estudio contribuirán a entender uno los factores menos estudiados hasta la fecha que generan la obesidad y con ello desarrollar nuevas estrategias de prevención o tratamientos más eficientes. Usted no tendrá ningún beneficio personal específico por participar en este estudio. No se le informará acerca de los resultados obtenidos en este estudio a menos que usted lo solicite. Esperamos que la información que pudiéramos obtener con estas investigaciones pueda ayudar a conocer más algunos aspectos sobre la obesidad que no se han descrito del todo, que ayuden a encontrar nuevas y mejores formas de tratamiento.

### **CONSIDERACIONES ECONÓMICAS**

Usted no recibirá ningún pago por donar su muestra, entendemos esto como un regalo de su parte a la investigación. Sus muestras se utilizarán exclusivamente para los fines de investigación.

### **CONFIDENCIALIDAD**

En ningún momento se conocerá su nombre, ya que a las muestras se les asignará una clave. **LA INFORMACIÓN QUE SE OBTENGA DE SU MUESTRA SERÁ ESTRICTAMENTE CONFIDENCIAL.**

### **PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA Y RETIRO DEL CONSENTIMIENTO**

Usted es libre de escoger donar o no sus muestras de heces, la donación es voluntaria. En caso de que después de haber aceptado la donación cambie de opinión, sus muestras se destruirán. En caso de haber realizado alguna investigación y si existen resultados sobre sus muestras antes de que haya cambiado de opinión, estos datos si serán utilizados. Si usted decide no donar su muestra o cancelar su autorización no habrá ningún cambio en la atención que se le brinda en el hospital, ni con sus médicos.

### **¿QUE PASARÁ EN EL FUTURO CON LAS MUESTRAS?**

Existen muchos tipos de estudios que utilizan muestras de heces para estudiar múltiples cosas como análisis de componentes en heces. Los investigadores pueden estudiar

proteínas, ARN Y ADN (genes). Las muestras serán almacenadas y, si usted lo permite, podrían ser utilizadas en un futuro para proyectos que en este momento no están planeados. En caso de que sus muestras se quieran analizar en un futuro, se le informará previamente sobre dicho estudio y se le solicitará su permiso mediante un nuevo Consentimiento Informado. Si no es así, las muestras se destruyen después de terminar de estudiarse.

## **PREGUNTAS**

Es posible que existan palabras técnicas que no entiende en este documento. Por favor pregunte todo lo que no entiende y tome su tiempo para decidir hacer la donación de sus muestras.

Si antes o durante su participación en este estudio, usted tiene alguna pregunta respecto al estudio, puede contactar al Dr. Jaime García Mena al 5747 3800 Ext. 5327, correo electrónico: [jgmena@cinvestav.mx](mailto:jgmena@cinvestav.mx) del Departamento de Genética y Biología Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN Unidad. También puede contactar al Dr. Víctor Martínez Silva al Tel. 55 19 94 5309 o al correo electrónico: [masv\\_hangeles@hotmail.com](mailto:masv_hangeles@hotmail.com) o a la Dra Arlen Martínez Alvarado al Tel. 55 55 03 4543 del Hospital Ángeles Lindavista.

## **CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE**

He leído la información que se me ha dado para decidir participar en el estudio **“SEGUIMIENTO DE LA VARIABILIDAD DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DURANTE UN TRATAMIENTO CON DIETA CETOGÉNICA PARA CONTROL DE PESO EN PACIENTES CON OBESIDAD Y DIABETES MELLITUS TIPO 2”**. El propósito general y mi participación en particular se me ha explicado, al igual que los posibles riesgos. Al firmar este documento, doy permiso para usar mis muestras de heces para los fines que el documento describe. Mi firma también da constancia que he recibido copia de este documento. Al firmar este documento no renuncio a ninguno de mis derechos legales.

Nombre completo del paciente:

\_\_\_\_\_

Dirección:

\_\_\_\_\_

Teléfono:

\_\_\_\_\_

Fecha:

\_\_\_\_\_

Firma:

\_\_\_\_\_

Estoy de acuerdo que mis muestras e información relacionada, ambas codificadas, sean almacenadas para su uso en futuras investigaciones y permitan conocer información sobre la

prevención, detección y tratamiento del cáncer, siempre y cuando se me solicite mi permiso en caso de una nueva investigación.

Sí


No

Nombre del Investigador:

Fecha:

Firma:


## ANEXO D. Menús del régimen tipo cetogénico (PRONUTRITION® H&NLAB)

	CETOSIS INICIAL	1	
Nombre: _____			
Fecha	Peso	Pc	Cetonuria
Sobres	Verduras	Provitamin	
Desayuno	✓		Tipo <u>  A  </u> Medida _____ Lt Agua _____
Colación	✓		
Comida	✓	✓	
Colación	✓		
Cena	✓	✓	
Tentempié			
Total			

**VERDURAS Y HORTALIZAS A LIBRE DEMANDA**

Acelgas Apio Artugula Berros Brócoli Calabacita Cilantro Champiñones y similares Chile de árbol Chile jalapeño Coliflor Edamames	Espinacas Flor de calabaza Germinado de soya Germinado de alfalfa Lechuga (cualquier variedad) Nopal Pepinillos Pepino Pimiento verde Quilites Rabaños Verdolagas
---	--

**VERDURAS ESSENCIALES DE CONSUMO: 100 GR AL DÍA**

Aicachofa Berenjena Chayote Col Coles de Bruselas Ejotes Espárragos Jitomate Nabos Otros pimientos Poro Tomate verde	
---	--

**CONDIMENTOS, ESPECIAS Y ACEITES:**

- Aceite de oliva extra virgen: 2 cucharadas soperas obligatorias.
- \* Aceite de oliva a las finas hierbas, chimichurri o a los chiles secos.
- Condimentos: siempre en polvo y/o deshidratados: ajo, cebolla, perejil, pimienta, albahaca, comino, orégano; etc.
- Jugo de limón, vinagre de vino tinto o blanco al día.
- Salsa Valentina, Tajin, jugo maggi, mostaza djon (o verificar la etiqueta que no contenga azúcar).
- Edulcorantes: aspartame, sucralosa, acesulfame potásico, stevia (Canderel o Stevia). 4 sobres al día máximo.

**LIQUIDOS AUTORIZADOS**

- AGUA: mínimo 2 lit diario.
- Café: 100% natural (de grano).
- Infusiones: en bolsita, no dulces, no mezclas.

**PREPARACIÓN SUGERIDA**

Frescas, al vapor, salteadas, cocidas, a la plancha.

El tiempo transcurrido entre cada ingesta deberá ser de 3 hrs.

Equilibrio y Nutrición | T. 5577 1213

**TIPS QUE TE FACILITARÁN EL PROGRAMA:**

• Deberás comer en 3 tiempos; sopa, verduras salteadas y ensalada en la que se recomienda que utilices aderezo o vinagretas con los ingredientes permitidos.

• Sopa de verduras: **variar las verduras y hortalizas diariamente y seguir el mismo modo de preparación. Ejemplo:**

- Sopa de champiñones y nopalitos
- Champiñones 50 gr
- Nopal 100 gr
- Jitomate 100 gr
- Cebolla y ajo en polvo al gusto
- Aceite de oliva extra virgen 1 cucharadita

**Modo de preparación:**

- 1 Cortar en rectángulos los nopales y cocerlos con suficiente agua hasta que agarren un color verde oscuro, retirar del fuego.
- 2 Freír el jitomate con la mitad de aceite de oliva, cuando este se ahumado agregar a la licuadora 100 ml. de agua y licuar.
- 3 Freír con la otra mitad de aceite de oliva los nopales con ajo y cebolla en polvo
- 4 Agregar los champiñones al jitomate y poner el líquido deseado.
- 5 Servir

• **Aderezos, viagretas:**

- Mostaza dulce
- Mostaza dijon 1 cucharadita
- Aceite de oliva 3 partes del recipiente
- Pimienta negra
- Zumo de medio limón
- Candereil al gusto

• **Vinagreta de hierbas**

- Picar hierbas (perejil, cilantro, albahaca)
- Sal al gusto
- Pimienta
- Aceite de oliva 3 partes del recipiente
- Vinagre de vino blanco

• **Vinagreta al tomillo**

- Aceite de oliva 3 partes del recipiente
- Tomillo 1 cucharadita
- Ajo en polvo
- Cebolla en polvo
- Bolladura de limón

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha	Peso	Pc	Cetonuria

	Sobre	Alimento rico en proteína	Verduras	Provitamin
Desayuno	✓			Tipo <u>  A  </u> Medida <u>      </u> Lt Agua <u>      </u>
Colación	✓			
Comida		✓	✓	
Colación	✓			
Cena	✓		✓	
Tentempié				
Total				

**VERDURAS Y HORTALIZAS A LIBRE DEMANDA**

Acelgas	Espinacas
Apio	Flor de calabaza
Arugula	Germinado de soya
Berros	Germinado de alfalfa
Brócoli	Lechuga (cualquier variedad)
Calabacita	Nopal
Cilantro	Pepinillos
Champiñones y similares	Pepino
Chile de árbol	Pimiento verde
Chile jalapeño	Quelites
Coliflor	Rabanos
Edamames	Verdolagas

**VERDURAS ESSENCIALES DE CONSUMO 100 GR AL DÍA**

Alcachofa
Berenjena
Chayote
Col
Coles de Bruselas
Ejotes
Espárragos
Jitomate
Nabos
Otros pimientos
Poro
Tomate verde

- CONDIMENTOS, ESPECIAS Y ACEITES:**
- Aceite de oliva extra virgen: 2 cucharadas soperas obligatorias.
  - Aceite de oliva a las finas hierbas, chimichurri o a los chiles secos.
  - Condimentos: siempre en polvo y/o deshidratados: ajo, cebolla, perejil, pimienta, albahaca, comino, orégano, etc.
  - Jugo de 1 limón, vinagre de vino tinto o blanco al día.
  - Salsa Valentina, Tajín, jugo maggi, mostaza djon (o verificar la etiqueta que no contenga azúcar).
  - Edulcorantes: aspartamo, sucralosa, acesulfame potásico, stevia (Canderel o Stevia). 4 sobres al día máximo.

- LIQUIDOS AUTORIZADOS**
- AGUA: mínimo 2 lt diario.
  - Café: 100% natural (de grano).
  - Infusiones: en bolsita, no dulces, no mezclas.

**PREPARACIÓN SUGERIDA:**  
Frescas, al vapor, salteadas, cocidas, a la plancha.

El tiempo transcurrido entre cada ingesta deberá ser de 3 hrs.



CARNE ROJA 100 - 150 gr	CARNE BLANCA 100 - 150 gr	PESCADOS / MARISCOS 200 gr	ATUNES (ENLATADOS) 120 gr	HUEVO
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Chumbarete de res</li> <li>- Escalopa de res</li> <li>- Falda de res</li> <li>- Empuje de res</li> <li>- Filete de res</li> <li>- Filete mignon de res</li> <li>- Tampiqueña de res</li> <li>- Puntas de res</li> <li>- Cuete de res</li> <li>- Espaldilla de cerdo sin grasa</li> <li>- Lomo de cerdo</li> <li>- Pecho de cerdo</li> <li>- Bola de ternera</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pechuga de pollo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cabrilla</li> <li>- Cherna</li> <li>- Husuñalugo</li> <li>- Isabelita</li> <li>- Jorobado</li> <li>- Lengüado</li> <li>- Robalo</li> <li>- Bagre</li> <li>- Lisa</li> <li>- Mero</li> <li>- Mojama</li> <li>- Pargo</li> <li>- Sargo</li> <li>- Branco de nilo</li> <li>- Bacalao</li> <li>- Almeja</li> <li>- Calamar</li> <li>- Camarón</li> <li>- Jibia</li> <li>- Langostino</li> <li>- Pulpo</li> <li>- Langosta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Golden Hill®</li> <li>- Bumerang®</li> <li>- Ancla®</li> <li>- Hypermax® aleta amarilla, azul, ke preñado</li> <li>- Tany® light</li> <li>- Tany® blanco de arón</li> <li>- Kern®</li> <li>- Calvo®</li> <li>- Herdez®</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2 Pizzas</li> </ul>

**MODO DE PREPARACIÓN:**

- Sarten antiadherente
- Horno
- Baño maría
- Empapelado
- Hervido
- Asado
- Al vapor
- A las brasas

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha	Peso	Pc	Cetonuria

	Sobre	Alimento rico en proteína	Verduras	Provitamin
Desayuno	✓			Tipo <u>  A  </u> Medida <u>      </u> Lt Agua <u>      </u>
Colación	✓			
Comida		✓	✓	
Colación	✓			
Cena		✓	✓	
Tentempié				
Total				

VERDURAS Y HORTALIZAS A LIBRE DEMANDA

- |                         |                              |
|-------------------------|------------------------------|
| Acelgas                 | Espinacas                    |
| Apio                    | Flores de calabaza           |
| Arugula                 | Germinado de soya            |
| Berros                  | Germinado de alfalfa         |
| Brócoli                 | Lechuga (cualquier variedad) |
| Calabacita              | Nopal                        |
| Cilantro                | Pepinillos                   |
| Champiñones y similares | Pepino                       |
| Chile de árbol          | Pimiento verde               |
| Chile jalapeño          | Queites                      |
| Coliflor                | Rabaños                      |
| Edamames                | Verdolagas                   |

VERDURAS ESSENCIALES DE CONSUMO: 100 GR AL DÍA

- Alcachofa
- Berenjena
- Chayote
- Col
- Coles de Bruselas
- Ejotes
- Espárragos
- Zitoma/e
- Nabos
- Otros pimientos
- Poro
- Tomate verde

CONDIMENTOS, ESPECIAS Y ACEITES

- Aceite de oliva extra virgen: 2 cucharadas soperas obligatorias.
- Aceite de oliva a las finas hierbas, chimichurri o a los chiles secos.
- Condimentos: siempre en polvo y/o deshidratados: ajo, cebolla, perejil, pimienta, albahaca, comino, orégano; etc.
- Jugo de 1 limón, vinagre de vino tinto o blanco al día.
- Salsa Valentina, Tajin, jugo maggie, mostaza djon (o verificar la etiqueta que no contenga azúcar).
- Edulcorantes: aspartame, sucralosa, acesulfame potásico, stevia (Canderel o Stevia). 4 sobres al día máximo.

LÍQUIDOS AUTORIZADOS

- AGUA: mínimo 2 lt diario.
- Café: 100% natural (de grano).
- Infusiones: en bolsita, no dulces, no mezclas.

PREPARACIÓN SUGERIDA

Frescas, al vapor, salteadas, cocidas, a la plancha.

El tiempo transcurrido entre cada ingesta deberá ser de 3 hrs.

CARNE ROJA 100 - 150 gr	CARNE BLANCA 100 - 150 gr	PESCADOS / MARISCOS 200 gr	ATUNES (ENLATADO) 120 gr	HUEVO
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Chamburgue de res</li> <li>- Escalops de res</li> <li>- Falda de res</li> <li>- Empuje de res</li> <li>- Filete de res</li> <li>- Filete mignon de res</li> <li>- Tamiagueña de res</li> <li>- Puntas de res</li> <li>- Cuarte de res</li> <li>- Espaldita de cerdo sin grasa</li> <li>- Lomo de cerdo</li> <li>- Pechito de cerdo</li> <li>- Bola de temera</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pechuga de pollo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cabrilla</li> <li>- Cherna</li> <li>- Huachuclanango</li> <li>- Icabellita</li> <li>- Jonobado</li> <li>- Lenguaño</li> <li>- Robalo</li> <li>- Bagre</li> <li>- Lina</li> <li>- Mero</li> <li>- Mojama</li> <li>- Pargo</li> <li>- Sargo</li> <li>- Blanco de nido</li> <li>- Bacalao</li> <li>- Almeja</li> <li>- Calamar</li> <li>- Camaron</li> <li>- Jiriba</li> <li>- Langostino</li> <li>- Pulpo</li> <li>- Langosta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Golden Fish</li> <li>- Amora</li> <li>- Ancho</li> <li>- Hypermar sleta</li> <li>- Amalia, gran</li> <li>- Pe priedor</li> <li>- Tuna light</li> <li>- Tuna blanco de agua</li> <li>- Nardi</li> <li>- Cato</li> <li>- Herdez</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2 Piezas</li> </ul>

**MODO DE PREPARACIÓN:**

- Sartén antiaderente
- Horno
- Baño maría
- Empapelado
- Hervido
- Asado
- Al vapor
- A las brasas



Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha	Peso	Pc

	Frutas	Sobre	Alimento rico en proteína	Verduras	Provitamin
Desayuno					
Colación	✓	✓			Tipo <u>  A  </u>
Comida			✓	✓	Medida <u>          </u>
Colación	✓	✓			Lt Agua <u>          </u>
Cena			✓	✓	
Tentempié					
Total					

VERDURAS Y HORTALIZAS A LIBRE DEMANDA

- |                         |                              |
|-------------------------|------------------------------|
| Acelgas                 | Espinacas                    |
| Apio                    | Flor de calabaza             |
| Arugula                 | Germinado de soya            |
| Berros                  | Germinado de alfalfa         |
| Brócoli                 | Lechuga (cualquier variedad) |
| Calabacita              | Nopal                        |
| Cilantro                | Pepinillos                   |
| Champiñones y similares | Pepino                       |
| Chile de árbol          | Pimiento verde               |
| Chile jalapeño          | Quelites                     |
| Coliflor                | Rabanos                      |
| Edamames                | Verdolagas                   |

VERDURAS ESSENCIALES DE CONSUMO: 100 GR AL DÍA

- |                   |
|-------------------|
| Alcachofa         |
| Berenjena         |
| Chayote           |
| Col               |
| Coles de Bruselas |
| Ejotes            |
| Espárragos        |
| Jitomate          |
| Nabos             |
| Otros pimientos   |
| Porro             |
| Tomate verde      |

CONDIMENTOS, ESPECIAS Y ACEITES

- Aceite de oliva extra virgen: 2 cucharadas soperas obligatorias.
- Aceite de oliva a las finas hierbas, chimichurri o a los chiles secos.
- Condimentos: siempre en polvo y/o deshidratados; ajo, cebolla, perejil, pimienta, abahaca, comino, orégano, etc.
- Jugo de 1 limón, vinagre de vino tinto o blanco al día.
- Salsa Valentina, Tajín, jugo maggi, mostaza djon (o verificar la etiqueta que no contenga azúcar).
- Edulcorantes: aspártame, sucralosa, acesulfame potásico, stevia (Canderel o Stevia). 4 sobres al día máximo.

LÍQUIDOS AUTORIZADOS

- AGUA: mínimo 2 lt diario.
- Café: 100% natural (de grano).
- Infusiones: en bolsita, no dulces, no mezclas.

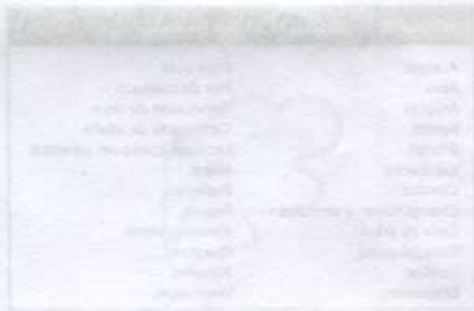
PREPARACIÓN SUGERIDA:

Frescas, al vapor, salteadas, cocidas, a la plancha.

El tiempo transcurrido entre cada ingesta deberá ser de 3 hrs.

LÁCTEOS	PANES Y TORTILLAS
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Yogurt light 0% grasa NATURAL</li> <li>- Sweet figura 0%, Sin grasa, sin azúcar (cualquier sabor)</li> <li>- Alpura b-bible 0% sin grasa sin azúcar (natural)</li> <li>- Vialiniatti bajo en grasa natural o fresca</li> <li>- Lala® light</li> <li>- Lyncott® reducido en grasa Cottage</li> <li>- Cottage light, reducido en grasa, Lala®</li> <li>- Borden® bajo en grasas</li> <li>- Panela Lala® Light</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Wonder, Cero, 1Pa (30gr)</li> <li>- Pan Integral 1Pa (30gr)</li> <li>- Pan Multigrano Dorado 1Pa (30gr)</li> <li>- Pan Blanco con fibra 1Pa (30gr)</li> <li>- Tortilla de Maiz 1Pa</li> <li>- Bolillo Integral 1/3 pa (20gr)</li> <li>- Pan tostado Integral 1Pa (30-20gr)</li> <li>- Pan tostado Sobre fibra 1Pa (15-20gr)</li> <li>- Sencillito tortas 1Pa</li> <li>- Sencillito Cero Nopal 1Pa</li> </ul>

DESAYUNO ESTABLECIDO
<p>Lácteos 150 gr: queso panela 75 gr + yogurt natural 75 gr.  Pan: 1 rebanada de pan integral ó 1 pieza de tortilla de maíz ó 1/3 bolillo.  FRUTA: SIEMPRE deberán ser frescas, NUNCA en almibar ni deshidratadas.  - 1 pieza (naranja, toronja, manzana, durazno, pera, ó plátano)  - 150 gr (melón, piña, sandía ó papaya)  - 1 taza (fresas, uvas, frambuesas, arándanos, cerezas)  - 2 kiwis ó 2 guayabas ó 2 ciruelas</p>



Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_

Pt: \_\_\_\_\_

	Pan	Frutas	Sobres	Alimento rico en proteína	Verduras	Provitamin
Desayuno						
Colación		✓	✓			
Cena	✓			✓	✓	Tipo B
Colación		✓	✓			Medida
Cena	✓			✓	✓	Lt Agua
Textempie						
Total						

**VERDURAS Y HORTALIZAS A LIBRE DEMANDA**

Acelgas	Espinacas
Apio	Flor de calabaza
Arugula	Germinado de soya
Berros	Germinado de alfalfa
Brócoli	Lechuga (cualquier variedad)
Calabacita	Nopal
Cilantro	Pepinillos
Champiñones y similares	Pepino
Chile de árbol	Pimiento verde
Chile jalapeño	Quilites
Coliflor	Rabanos
Estamames	Verdolagas

**VERDURAS ESSENCIALES DE CONSUMO: 100 GR AL DÍA**

Aicachofa	Cebolla
Berenjena	Zanahoria
Chayote	Jicama
Col	
Coles de Bruselas	
Ejotes	
Espárragos	
Jitomate	
Nabos	
Otros pimientos	
Poro	
Tomate verde	

**CONDIMENTOS, ESPECIAS Y ACEITES**

- Aceite de oliva extra virgen: 2 cucharadas soperas obligatorias.
- Aceite de oliva a las finas hierbas, chimichurri o a los chiles secos.
- Condimentos: siempre en polvo y/o deshidratados: ajo, cebolla, perejil, pimienta, albahaca, comino, orégano, etc.
- Jugo de 1 limón, vinagre de vino tinto o blanco al día.
- Salsa Valentina, Tajín, jugo maggie, mostaza djon (o verificar la etiqueta que no contenga azúcar).
- Edulcorantes: aspartame, sucralosa, acesulfame potásico, stevia (Canderel o Stevia). 4 sobres al día máximo.

**LÍQUIDOS AUTORIZADOS**

- AGUA: mínimo 2 lt diario.
- Café: 100% natural (de grano).
- Infusiones: en bolsita, no dulces, no mezclas.

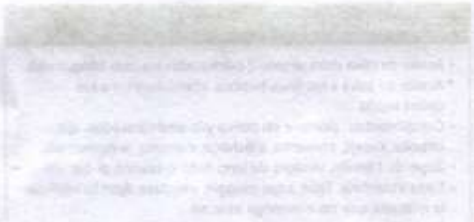
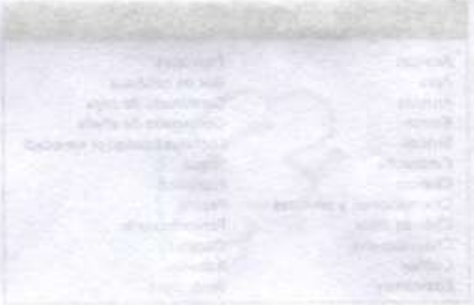
**PREPARACIÓN SUGERIDA**

Frescas, al vapor, saiteadas, cocidas, a la plancha

El tiempo transcurrido entre cada ingesta deberá ser de 3 hrs.

LÁCTEOS	PANES Y TORTILLAS
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Yogurt light 0% grasa NATURAL</li> <li>• Swilly ngura 0% sin grasa, sin azúcar (cualquier sabor)</li> <li>• Alpara ti-bible 0% sin grasa sin azúcar (natural)</li> <li>• Vitadream bajo en grasa Natural o Fresca</li> <li>• Lala® Light</li> <li>• Lyncraft® reducido en grasa Cottage</li> <li>• Cottage light, reducido en grasa Lala®</li> <li>• Borden® bajo en grasas</li> <li>• Panela Lala® Light</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wonder Bread 1Paq (30gr)</li> <li>• Pan Integral 1Paq (30gr)</li> <li>• Pan Multigrano Lira® 1Paq (30gr)</li> <li>• Pan Suave con fibra 1Paq (30gr)</li> <li>• Tortilla de Maíz 1paq</li> <li>• Bolillo Integral 1/3 paq (20gr)</li> <li>• Pan tostado integral 1Paq (35-70gr)</li> <li>• Pan tostado doble fibra 1Paq (35-70gr)</li> <li>• Sandwiches tortilla 1Paq</li> <li>• Sandwiches Con Nopal 1Paq</li> </ul>

DESAYUNO ESTABLECIDO:					
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lácteos 150 gr: queso panela 75 gr + yogurt natural 75 gr.</li> <li>• Pan: 1 rebanada de pan integral ó 1 pieza de tortilla de maíz ó 1/3 bolillo.</li> <li>• FRUTA: SIEMPRE deberán ser frescas, NUNCA en almibar ni deshidratadas.               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 pieza (naranja, toronja, manzana, durazno, pera ó plátano)</li> <li>- 150 gr (melón, piña, sandía ó papaya)</li> <li>- 1 taza (fresas, uvas, frambuesas, arándanos, cerezas)</li> <li>- 2 kiwis ó 2 guayabas ó 2 ciruelas.</li> </ul> </li> </ul>					



Nombre \_\_\_\_\_


Fecha \_\_\_\_\_

Peso \_\_\_\_\_

Pc \_\_\_\_\_

	Leguminosas	Pan	Frutas	Sobres	Alimento rico en proteína	Verduras	Provitamin
Desayuno							Tipo <u>B</u> Medida _____ Lt Agua _____
Colación			✓	✓			
Comida	✓				✓	✓	
Colación			✓	✓			
Cena		✓			✓	✓	
Tentempié							
Total							

VERDURAS Y HORTALIZAS A LIBRE DEMANDA

- |  |   |
|--|---|
| Acelgas<br>Apio<br>Arugula<br>Berros<br>Brocoli<br>Calabacita<br>Cilantro<br>Champiñones y similares<br>Chile de árbol<br>Chile jalapeño<br>Coliflor<br>Edamames |  Espinacas<br>Flor de calabaza<br>Germinado de soya<br>Germinado de alfalfa<br>Lechuga (cualquier variedad)<br>Nopal<br>Pepinillos<br>Pepino<br>Pimiento verde<br>Quesites<br>Rabanitos<br>Verdolagas |
|--|---|

VERDURAS ESSENCIALES DE CONSUMO 100 GR AL DÍA

- |   |   |
|---|---|
| Alcachofa<br>Berenjena<br>Chuyote<br>Col<br>Coles de Bruselas<br>Ejotes<br>Espárragos<br>Jitomate<br>Nabos<br>Otros pimientos<br>Poro<br>Tomate verde |  Cebolla<br>Zanahora<br>Jícama |
|---|---|

CONDIMENTOS, ESPECIAS Y ACEITES

- Aceite de oliva extra virgen: 2 cucharadas soperas obligatorias.
- Aceite de oliva a las finas hierbas, chimichurri o a los chiles secos.
- Condimentos: siempre en polvo y/o deshidratados: ajo, cebolla, perejil, pimienta, albahaca, comino, orégano, etc.
- Jugo de 1 limón, vinagre de vino tinto o blanco al día.
- Salsa Valentina, Tajín, jugo maggi, mostaza djon (o verificar la etiqueta que no contenga azúcar).
- Edulcorantes: aspartame, sucralosa, acesulfame potásico, stevia (Canderel o Stevia): 4 sobres al día máximo.

LIQUIDOS AUTORIZADOS

- AGUA: mínimo 2 lt diario.
- Café: 100% natural (de grano).
- Infusiones: en bolsita, no dulces, no mezclas.

PREPARACIÓN SUGERIDA

Frescas, al vapor, salteadas, cocidas, a la plancha

El tiempo transcurrido entre cada ingesta deberá ser de 3 hrs.



### LÁCTEOS

- Yoplait® Light 0% grasa NATURAL
- Sweet'ness 0% Sin grasa, sin azúcar (cualquier sabor)
- Aquaria 0-lactosa 0% sin grasa sin azúcar (natural)
- Weikmann® bajo en grasa natural o fresa
- Lala® Light
- Lyncott® reducción en grasa Cottage
- Cottage light® reducido en grasa Lala®
- Borden® bajo en grasas
- Panela Lala® Light

### PANES Y TORTILLAS

- Wonder Bread 1Pza (30gr)
- Pan Integral 1Pza (30gr)
- Pan Multigrano 1Pza 1Pza (30gr)
- Pan Sésamo con Fibra 1Pza (30gr)
- Tortilla de Maíz 1pza
- Acelis Integral 1/3 pza (20gr)
- Pan tostado integral 1pza (15-20gr)
- Pan tostado doble fibra 1pza (15-20gr)
- Salsicón Tostada 1pza
- Salsicón Cui Nopal 1pza

### LEGUMINOSAS, CEREALES (2 ó 3 veces por semana)

Pastas, arroz, papa, elote, lentejas, garbanzos, chicharos, alubias, habas, frijoles.  
La porción es de 150 gramos ya cocidos, que pudieras medirlo como la mitad de una taza.  
**NUNCA SE COMBINARÁ CON PAN O TORTILLA.**

### DESAYUNO ESTABLECIDO:

- Lácteos 150 gr: queso panela 75 gr + yogurt natural 75 gr.
- Pan: 1 rebanada de pan integral ó 1 pieza de tortilla de maíz ó 1/3 bolillo.
- FRUTA: SIEMPRE deberán ser frescas, NUNCA en almibar ni deshidratadas.
  - 1 pieza (naranja, toronja, manzana, durazno, pera ó plátano)
  - 150 gr (melón, piña, sandía ó papaya)
  - 1 taza (fresas, uvas, frambuesas, arándanos, cerezas)
  - 2 kiwis ó 2 guayabas ó 2 ciruelas.

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha	Peso	Pc

	Materia grasa	Leguminosas	Pan	Frutas	Sobre	Alimento rico en proteína	Verduras	Provitamin
Desayuno								
Colación				✓	✓			
Comida	✓	✓				✓	✓	Tipo <u>C</u>
Colación				✓	✓			Medida _____
Cena	✓		✓			✓	✓	Lt Agua _____
Tertempie								
Total								

VERDURAS Y HORTALIZAS A LIBRE DEMANDA

- |                          |                              |
|--------------------------|------------------------------|
| Acelgas                  | Espinacas                    |
| Apio                     | Flor de calabaza             |
| Arugula                  | Germinado de soya            |
| Berros                   | Germinado de alfalfa         |
| Brócoli                  | Lechuga (cualquier variedad) |
| Calabacita               | Nopal                        |
| Cilantro                 | Pepinillos                   |
| Champiñones, y similares | Pepino                       |
| Chile de árbol           | Pimiento verde               |
| Chile jalapeño           | Quilites                     |
| Coliflor                 | Rábanos                      |
| Edamames                 | Verdolagas                   |

VERDURAS ESSENCIALES DE CONSUMO 100 GR AL DÍA

- |                   |           |
|-------------------|-----------|
| Alcachofa         | Cebolla   |
| Berenjena         | Zanahoria |
| Chayote           | Jicama    |
| Coi               |           |
| Coles de Bruselas |           |
| Ejotes            |           |
| Espárragos        |           |
| Jitomate          |           |
| Nabos             |           |
| Otros pimientos   |           |
| Poro              |           |
| Tomate verde      |           |

CONDIMENTOS, ESPECIAS Y ACEITES:

- Aceite de oliva extra virgen, 2 cucharadas soperas obligatorias.
- Aceite de oliva a las finas hierbas, chimichurri o a los chiles secos.
- Condimentos: siempre en polvo y/o deshidratados: ajo, cebolla, perejil, pimienta, albahaca, comino, orégano; etc.
- Jugo de 1 limón, vinagre de vino tinto o blanco al día.
- Salsa Valentina, Tajín, jugo maggi, mostaza djon (o verificar la etiqueta que no contenga azúcar).
- Edulcorantes: aspartamo, sucralosa, acesulfame potásico, stevia (Canderel o Stevia). 4 sobres al día máximo.

LIQUIDOS AUTORIZADOS:

- AGUA: mínimo 2 lt diario.
- Café: 100% natural (de grano).
- Infusiones: en bolsita, no dulces, no mezclas.

PREPARACIÓN SUGERIDA:

Frescas, al vapor, salteadas, cocidas, a la plancha.

El tiempo transcurrido entre cada ingesta deberá ser de 3 hrs.

**CARNES CON ALTO APORTE DE GRASA 100-150 GRS**  
2 ó 3 veces por semana

- Maciza de cordero
- Carne de borrego
- Chuleta de cerdo
- Pajpa de cerdo
- Chuleta de cerdo
- Cocote de cerdo
- Costilla de cerdo
- Aguzado
- Asichera de res
- Aguja de res
- Molida de res sin sal
- Sirolo (res)
- Maciza de res
- T-Bone sin grasa
- Rib eye sin grasa

**PESCADOS 200 GR**

- Boqueron
- Carpa
- Cazón
- Pompano
- Sierra
- Trucha
- Sardina
- Salmón
- Atún fresco

**GRASAS (2 ó 3 veces por semana)**

- 1/3 Aguacate o 15 gr de mantequilla o queso crema o crema reducida en grasa, mayonesa reducida en grasa.
- 1 Vaso de 200 ml de leche descremada

**LEGUMINOSAS, CEREALES (2 ó 3 veces por semana)**

Pastas, arroz, papa, elote, lentejas, garbanzos, chicharos, alubias, habas, frijoles  
La porción es de 150 gramos ya cocidos, que pudieras medirlo como la mitad de una taza.  
**NUNCA SE COMBINARÁ CON PAN O TORTILLA.**

**DESAYUNO ESTABLECIDO:**

- Lácteos 150 gr: queso panela 75 gr + yogurt natural 75 gr.
- Pan: 1 rebanada de pan integral ó 1 pieza de tortilla de maíz ó 1/3 bolillo.
- FRUTA: SIEMPRE deberán ser frescas, NUNCA en almibar ni deshidratadas.
- 1 pieza (naranja, toronja, manzana, durazno, pera ó plátano)
- 150 gr (melón, piña, sandía ó papaya)
- 1 taza (fresas, uvas, frambuesas, arándanos, cerezas)
- 2 kiwis ó 2 guayabas ó 2 ciruelas.

## ANEXO E. Ejemplos de menús hipocalóricos de 7 días para pacientes

### DIETA MEDITERRANEA Menú 500 cal

<p><b>DESAYUNO</b> <b>Yogur-con-fruta</b> 3/4 taza de yogur griego natural 1/4 taza de fresas picadas 1/2 taza de manzana picada 3 cucharadas de granola <b>Huevo-revuelto</b> 1 huevo 1 cucharada de aceite de oliva 1/2 taza de aguacate</p> <p><b>COMIDA</b> <b>Pescado-empapelado-(aluminio)</b> 1 filete de pescadillo empapelado 1/2 taza de cebolla dorada 1/2 taza de fideo con chorizo 1 cucharadita de ajo picado 1 cucharada de aceite de oliva <b>2/3-taza-arroz-integral-cocido</b> *salpimentar <b>100-ml-de-vino-tinto</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Sandwich-en-pan-de-ajo</b> 2 rebanadas de pan integral 2 cucharadas de aceite de oliva 1 cucharadita de ajo Queso de feta, labra, fresco 6 rodajas de pepino 2 rebanadas de jamón de pecho <b>jugo-de-nopal-con-limón-</b> nopal y jugo de limón cocido con nopal limón y stevia al gusto</p> <p><b>DESAYUNO</b> <b>Crepas-con-yogur-y-fresa</b> 2 repajas 1 taza de fresas picadas 1/2 taza de yogur griego natural <b>té-con-leche</b> 1 taza de leche de almendra/soya te de hierba de bolsita)</p> <p><b>COMIDA</b> <b>Pescado-a-las-hierbas-(aluminio)</b> filete de salmón 1 cucharadita de ajo, comino tomillo, perejil jugo de limón salpimentar* <b>Verduras-salteadas</b> 1 zanahoria y 2 ajos 1 taza de jotes 2 cucharadas de aceite de oliva <b>100-ml-de-vino-tinto</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Emparedado-de-hummus</b> 2 rebanadas de pan integral tostado 6 cucharadas de hummus caramelizar 1/2 taza de cebolla 1 cucharada de aceite de oliva 1 cucharadita de comino y rodajas rebanadas de pepino y queso de asfalta <b>1-taza-de-leche-de-almendra/soya</b></p>	<p><b>DESAYUNO</b> <b>Pan-francés</b> 2 rebanadas de pan integral 1 huevo vainilla al gusto 1/4 taza de leche de almendra/soya canela en polvo 3 cucharadas de miel fresas y moras al gusto <b>3/4-tz-de-leche-almendra/soya</b></p> <p><b>COMIDA</b> <b>Ensalada-de-pasta-con-pollo</b> 1/2 taza de pasta integral cocida 1 cucharadita de tomate picado y cuadrados 1/2 taza de cuadritos de queso fresco 1 pecho de pollo a la plancha picado 1 manzana verde y 2 rebanadas 2 cucharadas de espinacas 2 cucharadas de aceite de oliva + 1 cucharadita de vinagre <b>100-ml-de-vino-tinto</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Vegetales-asados</b> 1/2 taza de berenjena 1 cucharadita de tomate de olla 1 calabaza y 1 chicha tomillo 2 cucharadas de aceite de oliva <b>1-reb-pan-integral-con-ajo</b> <b>Limonada-de-pepino</b> 1/2 taza de pepino, jugo de limón Stevia</p> <p><b>DESAYUNO</b> <b>Huevos-con-espinacas</b> 2 huevos 1/2 taza de espinacas 1 rebanada de jamón de pecho 2 cucharadas de aceite 1 rebanada de pan integral tostado 1 taza de papaya</p> <p><b>COMIDA</b> <b>Jitomates-rellenos</b> 1 lata de jitón en agua 2 jitomates de olla 1 cucharada de mayonesa 1 cucharadita de yogur griego natural 1/2 taza de cebolla dorada 1/2 taza de fideo con chorizo Jugo de limón *salpimentar 2 cucharadas de nopal <b>100-ml-de-vino-tinto</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Sopa-de-hongos</b> 1 taza de hongos 1/2 taza de cebolla 1 cucharadita de ajo 1/3 taza de comino y ajos 1 cucharadita de aceite de oliva consomé de pollo/pimienta <b>1-reb-pan-integral-tostado</b> 2 cucharadas de queso</p>	<p><b>DESAYUNO</b> <b>Sincronizadas</b> 3 tortillas de nopal 60 g de queso de panela 2 rebanadas de jamón de pecho 1 taza de oronja <b>Pico-de-gallo</b> tomate, cebolla, Chile, limón</p> <p><b>COMIDA</b> <b>Ensalada-mediterranea</b> 1/2 taza de pepino grande 1/2 taza de tomate y brozos 1/2 taza de fideo con queso amarillo 1/2 taza de cebolla dorada 2 cucharadas de alhama 8 aceitunas 1 rebanada de queso de cabra y 1/2 cucharada de aceite <b>Aderezo-de-yogur-(licuar)</b> 1/3 taza de yogur natural 1 cucharadita de ajo, 1/2 cucharada de aceite de oliva, 1/2 cucharadita de limón 1/3 taza de pepino <b>100-ml-de-vino-tinto</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Hamburguesa-de-portobello</b> 1 pollo y 1 hamburguesa integral 1 portobello grande asado 2 cucharadas de mayonesa mostaza al gusto espinacas, tomate <b>1-zanahoria-en-tiritas</b> <b>Limonada-con-chia-(stevia)</b> 1 cucharadita de chia</p> <p><b>DESAYUNO</b> <b>Huevo-con-brócoli</b> 1/2 taza de brócoli cocido 1 taza de huevo 1/2 taza de cebolla picada 2 cucharadas de aceite de oliva 1 taza de papaya picada 1/2 taza de pan integral tostado</p> <p><b>COMIDA</b> <b>Soufflé-de-atún</b> 2 rebanadas de pan integral <b>licuar:</b> 1 taza de jitón en agua 1/2 taza de media crema light 1/2 taza de fideo con chorizo chile y hipotle en agua al gusto *salpimentar <b>Ensalada:</b> 1 taza de espinacas 1/2 manzana picada 1 taza de pepino 2 cucharadas de aceite de oliva <b>100-ml-de-vino-tinto</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Berenjenas-rellenas-de-ahampiñón</b> 1 berenjena grande y 2 unidades 1 taza de ahampiñones 1/2 taza de cebolla blanca picada 2 cucharadas de aceite de oliva 3 cucharadas de queso parmesano *se saltea la cebolla y el ahampiñón, se rellenan y seornean 2 tortillas tostadas de nopal</p>	<p><b>DESAYUNO</b> <b>Avena</b> 1 taza de leche de almendra y soya 1/2 taza de avena y 2 cucharadas de hojuelas 3/4 taza de fresa picada <b>Huevos-revultos-con-cebolla</b> 1/2 taza de huevo 1/2 taza de cebolla picada 1 cucharada de aceite de oliva</p> <p><b>COMIDA</b> <b>Pechuga-al-mojo-de-ajo</b> 1 pecho de pollo 2 cucharadas de aceite de oliva 2 cucharadas de ajo picados 1/2 taza de arroz integral cocido <b>Verduras-salteadas</b> 3/4 taza de fideo 1 taza de ahampiñones 1/2 taza de queso de cabra 1 cucharada de aceite de oliva salpimentar <b>100-ml-de-vino-tinto</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Ensalada-de-garbanzo</b> 1/2 taza de garbanzo cocido 1/2 taza de espinacas 1/2 taza de aguacate picado 1/3 taza de cebolla dorada picada 2 cucharadas de aceite de oliva 1/3 taza de queso de cabra y referencia *salpimentar/limón 1 rebanada de pan integral tostado y 1/2 cucharada de ajo</p>
--	--	---	---

## ANEXO E. Ejemplos de menús hipocalóricos de 7 días para pacientes (cont.)

### DIETA MEDITERRANEA Menú 1500 kcal

<p><b>DESAYUNO</b> <b>Espinacas con huevo</b> 1/2 tz cebolla blanca 1 tz espinacas crudas 2 ccdds aceite oliva 2 pz huevo <b>2 tortillas de nopal</b> 1 toronja</p> <p><b>COMIDA</b> <b>1 tz Arroz de coliflor</b> <b>Pescado Lemmon pepper</b> 1 filete tilapia 1 ccdt aceite 2 ccdds queso parmesano</p> <p><b>CENA</b> <b>Tlacoyos de nopal</b> 2 nopales cocidos 1/2 tz frijol molido 1/2 tz pollo cocido desmenuzado 1/3 tz queso cotija pico de gallo: cebolla, jitomate</p> <p><b>COLACIÓN</b> <b>Ensalada</b> 1 tz espinacas/lechuga 10 mitades nueces 1 zanahoria rallada 1/2 naranja en cubitos</p> <p><b>DESAYUNO</b> <b>Entomatadas-de-Requesón</b> 3 tortillas de nopal 6 ccdds de requesón 1 tomate, 1 cebolla, 1 ajo 2 ccdds de aceite 1 tz de chuga, 1 abano, 1 pepino <b>1/2-tz-frijol-molido</b></p> <p><b>COMIDA</b> <b>Pescado-al-cilantro*</b> 1 filete de mojarra 2 ccdds de mantequilla 1 ajo, 1/2 tz cebolla picada 1/2 tz crema light jugo de medio limón 1/2 tz cilantro desinfectado <b>Guarnición-de-coliflor-cocida-(1-1/2-tz)</b> Gelatina-base-agua</p> <p><b>CENA</b> <b>Nopales-a-la-mexicana</b> 2 nopales cocido 1/2 tz cebolla 1 jitomate picado 2 ccdt de aceite de oliva 1/2 tz de aguacate <b>2-tostadas-nopal</b> <b>1/2-tz-frijol-molido</b></p> <p><b>COLACIÓN</b> 1/2 tz de uvas 7 mitades de nueces</p>	<p><b>DESAYUNO</b> <b>Tortilla de huevo</b> 1/2 tz pimiento morrón 1/2 tz cebolla picada 1/2 tz de champiñones 2 pz de huevo 2 ccdds aceite de oliva <b>2 tortillas de nopal</b></p> <p><b>COMIDA</b> <b>Ensalada de pollo y nuez</b> 1/2 tz pechuga desmenuzada 1 barra apio picada fina 1/4 tz perejil picado 1/2 tz uvas rojas picadas 1/2 tz cebolla morada picada 1/4 tz almendras picadas 2 ccdds yogur griego natural 1 ccdt mayonesa, jugo de limón <b>2 tostadas de nopal</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Calabacitas a la parmesana</b> 2 calabacitas medianas 2 ccdds aceite de oliva 1 jitomate en cuadros 1 ajo molido 2 ccdds queso parmesano <b>1/2 tz frijol molido</b> <b>Limonada con chía (3 ccdds)</b></p> <p><b>COLACIÓN</b> 1 toronja 10 mitades de nueces</p> <p><b>DESAYUNO</b> <b>Huevo-en-cama-de-requesón</b> 2 tortillas tostadas de nopal 2 pz de huevo (estrellado)/3 ccdds de aceite de oliva 2 ccdds de requesón 1/2 tz de aguacate en rodajas <b>Jugo-verde</b> 1 nopal, 1/2 tz piña, 1 limón &amp; stevia 2 ccdds de chía</p> <p><b>COMIDA</b> <b>Sopa-de-pollo</b> 1 jalapeño, 1 jitomate, 1 ajo 1/2 tz de cebolla picada 2 ccdds de aceite de oliva 2 tz de caldo de pollo 1/2 tz de pollo cocido picado en cuadros 2 ccdds de hojas de cilantro 1/2 tz de aguacate mediana 2 tortillas de nopal <b>1/2-tz-frijol-molido</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Quesadillas-de-espinacas</b> 3 tortillas de nopal 1/2 tz de queso gouda 2 tz de espinacas+1/2 tz de cebolla+1 tz de champ 2 ccdds de aceite de oliva <b>Limonada-de-pepino:</b> 1 limón, 1/2 pepino stevia &amp; 3 ccdds de chía</p> <p><b>COLACIÓN-</b> 2 unas de eladas &amp; 1/2 tz de uvas &amp; hojas</p>	<p><b>DESAYUNO</b> <b>yogur Manzana-canela</b> 1 tz yogur griego 1 manzana verde grande 1 ccdt mantequilla 2 ccdds canela en polvo stevia al gusto <b>2 tostadas de nopal</b> <b>1/2 pz aguacate</b></p> <p><b>COMIDA</b> <b>Pescado con salsa aguacate</b> 1 filete pescado 2 ccdds aceite y 1 ajo <b>salsa</b> 1/2 aguacate mediano 1/4 tz cebolla morada jugo de 1 limón cilantro picado <b>1 tz ejotes cocidos</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Sopa de tomate</b> 3 jitomates, 1 tz cebolla blanca 2 ccdds aceite de oliva 1 ajo, caldo verdura/pollo 1/2 tz perejil, chile jalapeño al gusto 1/2 tz queso panela picado <b>2 tostadas de nopal</b></p> <p><b>COLACIÓN</b> 1 reb pan integral tostado 2 ccdds hummus</p> <p><b>DESAYUNO</b> <b>Tostadas-de-hummus-</b> 2 tostadas de nopal 4 ccdds hummus 1/2 tz de aguacate en rodajas <b>1-huevo-revuelto-con-1-ccdt-acetie-de-oliva</b> 1/2 tz de frijoles picado <b>1-manzana-picada</b></p> <p><b>COMIDA</b> <b>Pollo-con-brócoli</b> 3/4 tz de pollo en trozos 1 tz de brócoli 2/3 tz de cebolla en tiras 1 tz de champiñones rebanados 3 ccdds de aceite de oliva, jugo de 1 naranja 2 ccdts de salsa de soya <b>Arroz-de-coliflor-(1-tz)</b></p> <p><b>Ensalada</b> 2 tz de espinaca 10 mitades de nueces picada 1 naranja verde picada 3 ccdds de queso azul desmoronado 1 tz de pepino picado 1 jitomate en cuadros &amp; cherry (3/4 tz) 3 ccdds de aceite de oliva + jugo de 1/2 naranja <b>2-reb-pan-integral</b></p> <p><b>COLACIÓN</b> 1 toronja &amp; gelatina base agua</p>	<p><b>DESAYUNO</b> <b>Jugo verde</b> 1 nopal, 1/2 tz piña, limón + stevia 2 ccdds chia <b>Pizza de huevo</b> 2 pz huevo 3 ccdds queso parmesano 1 jitomate en rodajas 2 ccdds aceite de oliva</p> <p><b>COMIDA</b> <b>Ensalada de atún</b> 1 lata atún en agua 1 barra apio picada 1/2 tz cebolla morada picada perejil, jugo de limón 2 ccd de yogur natural 1 ccd mayonesa <b>2 tostadas de nopal</b></p> <p><b>CENA</b> <b>Sopa de verduras</b> 2 ccdds acetie de oliva 1/2 tz zanahoria (cuadritos) 1/2 tz cebolla 1 ajo, 1/2 tz apio 1/2 tz jitomate, 1/2 tz elotes 1 tz ejotes, 1/2 tz perejil 2 tz caldo de pollo <b>1 reb pan integral tostado</b></p> <p><b>COLACIÓN</b> jicama y pepino + 1/2 tz cacahuates</p>
---	---	--	---

## ANEXO E. Ejemplos de menús hipocalóricos de 7 días para pacientes (cont.)

### DIETA MEDITERRANEA Menú 500 cal

**DESAYUNO**

**Yogur-con-fruta**  
3/4 taza de yogur griego natural  
1/4 taza de fresas picadas  
1/2 manzana picada  
3 cdts de granola  
**Huevo-revuelto**  
1 huevo  
1 cdt de aceite de oliva  
1/2 taza de aguacate

**COMIDA**

**Pescado-empapelado-(aluminio)**  
1 filete de pescado empapelado  
1/2 taza de cebolla dorada  
1/2 taza de hinojo dorado  
1 diente de ajo picado  
1 dtd de aceite de oliva  
**2/3-tz-arroz-integral-cocido**  
\*salpimentar  
**100-ml-de-vino-tinto**

**CENA**

**Sandwich-en-pan-de-ajo**  
2 reb de pan integral  
2 cdts de aceite de oliva  
1 diente de ajo  
Queso de feta, labra, fresco)  
6 rodajas de pepino  
2 reb de jamón de chugua  
**jugo-de-nopal-con-limón**  
nopales y jugo de cocción de nopal  
limón y estevia al gusto

**DESAYUNO**

**Huevo-con-champiñones**  
1 huevo  
2 cdts de aceite  
1/2 taza de cebolla blanca  
1/2 taza de champiñones  
2 tortillas de nopal  
2 reb de gruesas de queso panela

**COMIDA**

**Brochetas**  
1 filete de chugua y pollo picado  
1 taza de hinojo dorado y verde picado  
3/4 taza de pioche de cebolla picada  
1 tomate en trozos  
1 cdt de aceite de oliva  
**1-tz-arroz-coliflor**  
**Agua-tamarindo**

**CENA**

**Frijoles-en-caldo**  
1 1/2 tazas de caldo  
1/2 taza de frijol entero  
**pico-de-gallo**  
cebolla, tomate  
1/2-pz-aguacate  
2 tostadas de nopal

**COLACIÓN-**

gelatina de ase de guava  
9 nitadas de uvas

**DESAYUNO**

**Pan-francés**  
2 reb de pan integral  
1 taza de huevo  
vainilla al gusto  
1/4 taza de leche de almendra/soya  
canela en polvo  
3 dts de miel  
fresas de temporada al gusto  
**3/4-tz-de-leche-almendra/soya**

**COMIDA**

**Ensalada-de-pasta-con-pollo**  
1/2 taza de pasta integral cocida  
1 tomate picado en cuadros  
1/2 taza de cuadritos de queso fresco  
1 chugua de plancha picada  
1 manzana verde de banana  
2 tazas de espinacas  
2 cdts de aceite de oliva + 1 cdt de aceite de inagre  
**100-ml-de-vino-tinto**

**CENA**

**Vegetales-asados**  
1/2 taza de enjena  
1 tomate de olla  
1 calabaza de hica  
tomillo  
2 cdts de aceite de oliva  
**1-reb-pan-integral-con-ajo**  
**Limonada-de-pepino**  
1/2 taza de pepino, jugo de limón  
Stevia

**DESAYUNO**

**Guacamole-con-nopales**  
1/2 taza de nopales cocidos  
1 taza de aguacate mediano  
1/2 taza de cebolla  
1/2 taza de tomate y limón  
**2-tiras-gruesas-de-panela**  
**2-tostadas-de-nopal**

**COMIDA**

**Sandwich-de-atún**  
1 lata de atún en agua  
1 tomate picado  
1/2 taza de cebolla picada  
jugo de limón  
rodajas de aguacate  
2 reb de pan integral tostado  
**1-zanahoria-en-tiras**  
**jicama-en-tiras**

**CENA**

**tostadas-de-hummus-con-pollo**  
2 tostadas de nopal  
4 cdts de hummus  
1/2 taza de pollo cocido desmenuzado  
**rodajas-de-jitomate**  
**rodajas-de-panela**  
**2-ccds-aceite-de-oliva**

**COLACIÓN**

1 taza de leche de almendra y azúcar  
1 manzana

**DESAYUNO**

**Sincronizadas**  
3 tortillas de nopal  
60 g de queso panela  
2 reb de monchega de pavo  
1 taza de coronja  
**Pico-de-gallo**  
tomate, cebolla, chile, limón

**COMIDA**

**Ensalada-mediterranea**  
1/2 taza de pepino grande  
1 tomate en trozos  
1/2 taza de hinojo amarillo  
1/2 taza de cebolla dorada  
2 reb de chugua italiana  
8 uvas  
1 chugua asada y aceite  
**Aderezo-de-yogur-(licuar)**  
1/3 taza de yogur natural  
1 dtd de aceite de oliva, limón  
1/3 taza de pepino  
**100-ml-de-vino-tinto**

**CENA**

**Hamburguesa-de-portobello**  
1 pollo / 1 hamburguesa integral  
1 portobello grande asado  
2 dts de mayonesa  
mostaza al gusto  
espinacas, tomate  
**1-zanahoria-en-tiritas**  
**Limonada-con-chía-(stevia)**  
1 cdt de chía

**DESAYUNO**

**Nopales-a-la-mexicana**  
2 nopales cocidos  
1/2 taza de cebolla  
1 tomate picado  
2 cdt de aceite de oliva  
1/2 taza de aguacate  
**2-tostadas-nopal**  
**1/2-tz-frijol-molido**

**COMIDA**

**Crepas-rellenas-de-hongos-(2-pz)**  
1 1/2 tazas de hongos y 2 reb de cebolla picada  
2 cdts de aceite de oliva  
**salsa**  
1/2 taza de aguacate mediano  
1/4 taza de cebolla dorada  
jugo de limón  
cilantro picado  
1 cdt de crema light

**CENA**

**Ceviche-de-atún**  
1 lata de atún en agua  
jugo de limón  
1/2 taza de cebolla picada  
1 tomate picado  
**2-tostadas-de-nopal**

**COLACIÓN**

1 taza de uvas  
9 nitadas de uvas

## ANEXO F. Listado de alimentos para elaboración de menús para pacientes asignados a dieta control

### Lista de equivalentes de alimentos

VERDURAS			FRUTA		
ALIMENTO	CANTIDAD (o EQUIVALENTE)	UNIDAD	ALIMENTO	CANTIDAD (o EQUIVALENTE)	UNIDAD
Apio crudo	1 1/2	taza	Arándano fresco	1/2	taza
Brócoli cocido	1	taza	Chabacano	4	pieza
<b>Calabaza cruda</b>	<b>1</b>	<b>pieza</b>	Ciruela roja	3	pieza
Cebolla blanca picada	1/2	taza	Durazno	2	pieza
Champiñón crudo y cebanado	1 1/2	taza	Fresa	1	taza
Col cruda	2	taza	Granada	1	pieza
Coliflor cruda	2	taza	Guayaba	3	pieza
Ejotes cocidos	1/2	taza	Jugo de frutas	1/2	taza
Espárragos	6	pieza	Kiwi	1 1/2	pieza
Espinacas cruda	2	taza	Mandarina	2	pieza
Flor de calabaza cruda	4	taza	Manzana	1	pieza
Jícama	1/2	taza	Mango	1/2	pieza
Jitomate	1	pieza	Melón	1/3	pieza
Jugo de verduras	1/2	taza	Moras	3/4	taza
<b>Jugo de zanahoria</b>	<b>1/4</b>	<b>taza</b>	Naranja	2	pieza
Lechuga	3	taza	Papaya	1	taza
Nopal crudo	2	pieza	Pera	1/2	pieza
Pepino picado	1	taza	Perón	1	pieza
Pimiento crudo	1	taza	Piña	3/4	taza
Zanahoria rallada/picada)	1/2	taza	Plátano	1/2	pieza
<b>PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL</b>			Sandía	1	taza
ALIMENTO	CANTIDAD (o EQUIVALENTE)	UNIDAD	ALIMENTO	CANTIDAD (o EQUIVALENTE)	UNIDAD
Atún fresco	30	gramos	Tamarindo pelado	1/4	taza
Atún en agua	1/2	lata	Toronja	1	pieza
Bistec de res	30	gramos	Tuna	2	pieza
Carne molida de pollo	30	gramos	Uva	1	taza
Falda de res	35	gramos	<b>ACEITES/GRASAS</b>		
Filete de pescado	40	gramos	ALIMENTO	CANTIDAD (o EQUIVALENTE)	UNIDAD
Milanesa de pollo	30	gramos	Aceite de oliva	1	cucharadita
Pechuga de pavo	1 1/2	rebanadas	Aceite de oliva extra virgen	1	cucharadita
Pechuga de pollo cocida y piel	30	gramos	Aceite de aguacate	1	cucharadita
Pescados	1	filete	Aceite de girasol	1	cucharadita
Pollo deshebrado	1/4	taza	Aderezos cremosos	1/2	cucharada
Pulpo cocido	25	gramos	Vinagretas	3	cucharadita
Surimi	2/3	barra	Aguacate	1/3	pieza
Molida de res	30	gramos	Crema	1	cucharada
Salmón	30	gramos	Mantequilla	1 1/2	cucharadita
Tofu	40	gramos	Mayonesa	1	cucharadita
Huevo	1	pieza	Queso crema	1	cucharada
Jamón de Virginia	1 1/2	rebanada	Almendra	10	pieza
			Cacahuete	14	piezas

Basado en el Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes

## ANEXO F. Listado de Alimentos para elaboración de menús (continuación)

### Lista de Equivalentes de Alimentos

CEREALES			LÁCTEOS		
ALIMENTO	CANTIDAD (1 EQUIVALENTE)	UNIDAD	ALIMENTO	CANTIDAD (1 EQUIVALENTE)	UNIDAD
Arroz blanco cocido	1/4	taza	Cottage light	3	cucharadas
Arroz integral cocido	1/3	taza	Requesón	3	cucharadas
Avena	3/4	taza	Queso panela	40	gramos
Bolillo/Baguette integral	1/3	pieza	Queso Mozzarella	40	gramos
Bisquets	1/2	pieza	Queso Chihuahua	25	gramos
Cereal de caja integral	1/2	taza	Queso Oaxaca	30	gramos
Crepas	2	pieza	Leche soya	1	taza
Croutones	1/2	taza	Leche light	1	taza
Elote desgranado	1/2	taza	Leche deslac.light	1	taza
Galleta integral salada	4	pieza	Leche almendra (s/azúcar)	1	taza
Galleta avena	2	pieza	Leche de soya s/azúcar	1	taza
Granola	3	cucharada	Yogur natural	1	taza
Harina	2 1/2	cucharada	yogur para beber	1	pieza
Hojuelas avena	1/3	taza	Helado	1/2	taza
Palomitas	2 1/2	taza	<b>LEGUMINOSAS</b>		
pan de caja integral	1	pieza	<b>ALIMENTO</b>	<b>CANTIDAD (1 EQUIVALENTE)</b>	<b>UNIDAD</b>
papa cocida	3/4	pieza	Alubia/ Habas cocidas	1/2	taza
Pasta integral cocida	1/2	taza	Frijol cocido	1/2	taza
tamal	1/5	pieza	frijol molido	1/3	taza
tortilla maíz	1	pieza	Garbanzo cocido	1/2	taza
tortilla de nopal	3	pieza	Hummus	5	cucharada
tortilla harina (chica)	1	pieza	Lenteja cocida	1/2	taza
tostada	1	pieza	Soya natural cocida	1/3	taza
tostadas de nopal	3	pieza	Soya texturizada	30	gramos
Quinoa	20	gramos	<b>ALIMENTOS LIBRES</b>		
<b>AZÚCARES</b>			<b>ALIMENTOS LIBRES</b>		
ALIMENTO	CANTIDAD (1 EQUIVALENTE)	UNIDAD	ALIMENTO	CANTIDAD (1 EQUIVALENTE)	UNIDAD
Mermelada sin azúcar	2	cucharadas	Stevia	-	
miel agave	2	cucharaditas	Splenda	-	
Gelatina (agua)	4 1/2	cucharadas	Café americano	-	
Crema en polvo	4	cucharaditas	vainilla	-	
<b>ACEITES/GRASAS</b>			mostaza	-	
ALIMENTO	CANTIDAD (1 EQUIVALENTE)	UNIDAD	pimienta	-	
Pepitas	60	pieza	canela	-	
Semilla de girasol	4	cucharadita	ajo	-	
Piñón	1	cucharada	flor jamaica	-	
Pistache	18	piezas	jengibre	-	
Nuez	7	mitades	hierbas para té	-	
			vinagre	-	

Basado en : Sisteman Mexicano de Alimentos Equivalentes



## ANEXO G. Hoja de Diario de alimentos para pacientes

Fecha: \_\_\_\_\_

Diario de Alimentos	HORA	ALIMENTOS	CANTIDAD (EQUIVALENTES)	PREPARACIÓN EMPLEADA
DESAYUNO				
COLACIÓN MAT.				
COMIDA				
COLACIÓN VESP.				
CENA				

## ANEXO H. Concentraciones de DNA genómico de muestras de pacientes de dieta mediterránea

<b>Muestras mediterránea</b>	<b>260</b>	<b>260/280</b>	<b>ng/ul</b>
PODM01a	6.86	1.61	343.1
PODM02a	6.03	1.7	301.5
PODM03a	12.4	1.9	620.8
PODM04a	13.48	1.55	674.2
PODM05a	6.18	1.76	309.4
PODM06a	3.5	1.56	175.2
PODM01b	4.31	1.45	215.8
PODM02b	6.02	1.54	301.3
PODM03b	3.13	1.51	156.5
PODM04b	5.96	1.57	298.1
PODM05b	15.4	1.9	772.2
PODM06b	13.08	1.83	654.3
PODM01c	2.92	1.6	146.21
PODM02c	6.08	1.76	3.04
PODM03c	2.66	1.49	133.1
PODM04c	9.36	1.54	468.3
PODM05c	20.37	1.77	518.5
PODM06c	1.3	1.34	65.4
PODM01d	128.5	1.36	128.5
PODM02d	1.7	1.33	85
PODM03d	7.58	1.72	374.4
PODM04d	4.15	1.47	490.2
PODM06d	8.8	1.42	49.7
PODM01e	0.99	1.02	89
PODM02e	1.78	1.29	126
PODM03e	2.52	1.23	129.5
PODM04e	2.59	1.23	142.2
PODM06e	2.84	1.68	78.4
PODM01f	7.3	1.45	366.7
PODM02f	7.4	1.44	373.8
PODM03f	7.5	1.44	375.9
PODM04f	10	1.55	501
PODM06f	10.3	1.55	515
PODM01g	8.8	1.44	441.6
PODM02g	8.4	1.43	424.1
PODM03g	9.5	1.43	476.7
PODM04g	8	1.41	403.2
PODM06g	8.3	1.42	419.3

## ANEXO I. Concentraciones de DNA genómico de muestras de pacientes de dieta cetogénica

Muestras Cetogénica	260	260/280	ng/ul	Muestras Cetogénica	260	260/280	ng/ul
PODC01a	11.2	1.72	561.5	PODC01e	3.27	1.22	163.9
PODC02a	14.78	1.51	710	PODC02e	2.1	1.19	105.3
PODC03a	13.27	1.66	663.7	PODC03e	1.84	1.4	92
PODC04a	6.33	1.92	316.6	PODC04e	6.28	1.87	314.3
PODC05a	7.48	1.81	374.2	PODC05e	2.54	1.43	127
PODC06a	7.57	1.78	378.6	PODC06e	1.13	1.41	56.6
PODC07a	7.6	1.5	380	PODC07e	16	1.82	32.9
PODC08a	10	1.64	500.4	PODC08e	6.19	1.29	309.5
PODC09a	4.21	1.6	210.9	PODC09e	2.4	1.54	120.2
PODC01b	11.33	1.71	566.5	PODC01f	92	1.44	46.4
PODC02b	3.35	1.41	167.6	PODC02f	13.85	1.15	692.7
PODC03b	12.81	1.47	640.9	PODC03f	3.23	1.69	161.7
PODC04b	5.29	1.71	264.7	PODC04f	7.12	1.25	356.1
PODC05b	6.27	1.38	313.9	PODC05f	1.4	1.5	75.1
PODC06b	14.43	1.57	721.6	PODC06f	10	1.55	503.6
PODC07b	9.9	1.52	495	PODC07f	15	2.2	14.9
PODC08b	6.5	1.49	325.1	PODC08f	6.3	1.44	315.6
PODC09b	5.43	1.73	271.8	PODC09f	9.4	1.43	473.3
PODC01c	2.91	1.37	145.4	PODC01g	8.5	1.42	427.6
PODC02c	3.8	1.47	190.8	PODC02g	8.7	1.44	435.4
PODC03c	15.23	1.59	761.9	PODC03g	8.3	1.43	416.2
PODC04c	13.68	1.6	684.5	PODC04g	8.2	1.45	410
PODC05c	17.47	1.39	872.5	PODC05g	9	1.42	450.4
PODC06c	15.05	1.52	752.8	PODC06g	8.8	1.43	442.3
PODC07c	7.3	1.3	368.7	PODC07g	0.34	2.02	17.14
PODC08c	9.94	1.91	497.3	PODC08g	8.2	1.44	412.7
PODC09c	3.45	1.51	172.8				
PODC01d	5.8	1.49	290				
PODC02d	7.6	1.41	381.4				
PODC03d	2.21	1.28	110.9				
PODC04d	10.98	1.81	549.1				
PODC05d	9.32	1.61	466				
PODC06d	14.9	1.51	745				
PODC07d	16	1.75	38				
PODC08d	9.8	1.41	493				
PODC09d	1.1	1.28	55.4				

## ANEXO J. Lista de primers con barcodes utilizados para secuenciación masiva

Nombre del primer	Ion Torrent Linker	Barcode	Espaciador	Primer 16S rDNA (5' – 3')
V3-341 F1	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	GATCTGCGATCC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F2	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	CAGTCTATCAGC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F3	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	CAAACAACAGCT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F4	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	GCAACACCATCC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F5	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	GCGATATATCGC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F6	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	CGAGCAATCCTA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F7	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AGTCGTGCACAT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F8	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	GTATCTGCGCGT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F9	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	CGAGGAAAAGTC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F10	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	CAAATTCGGGAT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F11	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AGATTGACCAAC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F12	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AGTTACGAGCTA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F13	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	GCATATGCACTG	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F14	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	CAACTCCCCTGA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F15	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	TTGGGTTAGCAG	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F16	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	TACGAGCCCTAA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F17	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	CACACGCTAGA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F18	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	TGCAGTCCCTCGA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F19	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACCATAGCTCCG	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F20	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	TGGACATCTCTT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F21	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	GAACACTTTGGA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F22	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	GAGCATCTGTGA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F23	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	TTGGGTACACGT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F24	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AAGGCGCTCCTT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F25	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	TAATACGGATCG	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F26	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	TCGGAAATTAGAC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F27	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	TGTGAATTGCGA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F28	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	CATTCTGGCGT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F29	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AACGCACGCTAG	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F30	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACACTGTTTCATG	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F31	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACCAGACGATGC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F32	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACGCTCATGGAT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F33	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACTCACGGTATG	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F34	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AGACCGTCAGAC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F35	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AGCACGAGCCTA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F36	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACAGACCACTCA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F37	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACCAGCGACTAG	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F38	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACGGATCGTCAG	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F39	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AGCTTGACAGCT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F40	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AACTGTGCGTAC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F41	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACCGCAGAGTCA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F42	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACGGTGAGTGTC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F43	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACTCGATTGAT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F44	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AGACTGCGTACT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F45	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AGCAGTCGGAT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F46	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AGGACGCACTGT	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F47	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	AAGAGATGTCGA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F48	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACAGCAGTGGTC	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F49	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACGTAICTCAGTG	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-341 F50	CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAG	ACTCGCACAGGA	GT	CCTACGGGAGGCAGCAG
V3-518 R	CCTCTCTATGGGCAGTCGGTGATCCGACTA CCAGGGTATCTAAT	-	CC	ATTACCGCGGCTGCTGG

## ANEXO K. Asignación de barcodes por muestra

ID chip 1 PODC01	# Primer Forward	BARCODE	ID chip 1 PODC01	# Primer Forward	BARCODE
PODC01a	1	GATCTGCGATCC	PODM01a	50	ACTCGCACAGGA
PODC02a	2	CAGCTCATCAGC	PODM02a	49	ACGTACTCAGTG
PODC03a	3	CAAACAACAGCT	PODM03a	48	ACAGCAGTGGTC
PODC04a	4	GCAACACCATCC	PODM04a	20	TGGACATCTCTT
PODC05a	5	GCGATATATCGC	PODM05a	46	AGGACGCACTGT
PODC06a	6	CGAGCAATCCTA	PODM06a	45	AGCAGTCGCGAT
PODC08a	8	GTATCTGCGCGT	PODM01b	42	ACGGTGAGTGTC
PODC09a	9	CGAGGGAAAGTC	PODM02b	43	ACTCGATTCGAT
PODC01b	11	AGATTGACCAAC	PODM03b	47	AAGAGATGTCSGA
PODC02b	12	AGTTACGAGCTA	PODM04b	41	ACCGCAGAGTCA
PODC03b	13	GCATATGCACTG	PODM05b	40	AACTGTGCGTAC
PODC04b	14	CAACTCCCGTGA	PODM06b	39	AGCTTGACAGCT
PODC05b	15	TTGCGTTAGCAG	PODM01c	37	ACCAGCGACTAG
PODC06b	16	TACGAGCCCTAA	PODM02c	30	ACACTGTTTCATG
PODC08b	18	TGCAGTCCTCGA	PODM03c	27	TGTGAATTCGGA
PODC09b	19	ACCATAGCTCCG	PODM04c	44	AGACTGCGTACT
PODC01c	32	ACGCTCATGGAT	PODM05c	17	CACTACGCTAGA
PODC02c	22	GAGCCATCTGTA	PODM06c	10	CAAATTCGGGAT
PODC03c	23	TTGGGTACACGT	PODM03d	7	AGTCGTGCACAT
PODC04c	24	AAGGCGCTCCTT			
PODC05c	21	GAACACTTTGGA			
PODC06c	26	TCGGAATTAGAC			
PODC08c	28	CATTCGTGGCGT			
PODC09c	33	ACTCACGGTATG			
PODC01d	31	ACCAGACGATGC			
PODC02d	25	TAATACGGATCG			
PODC03d	29	AACGCACGCTAG			
PODC04d	34	AGACCGTCAGAC			
PODC05d	35	AGCACGAGCCTA			
PODC06d	36	ACAGACCACTCA			
PODC08d	38	ACGGATCGTCAG			

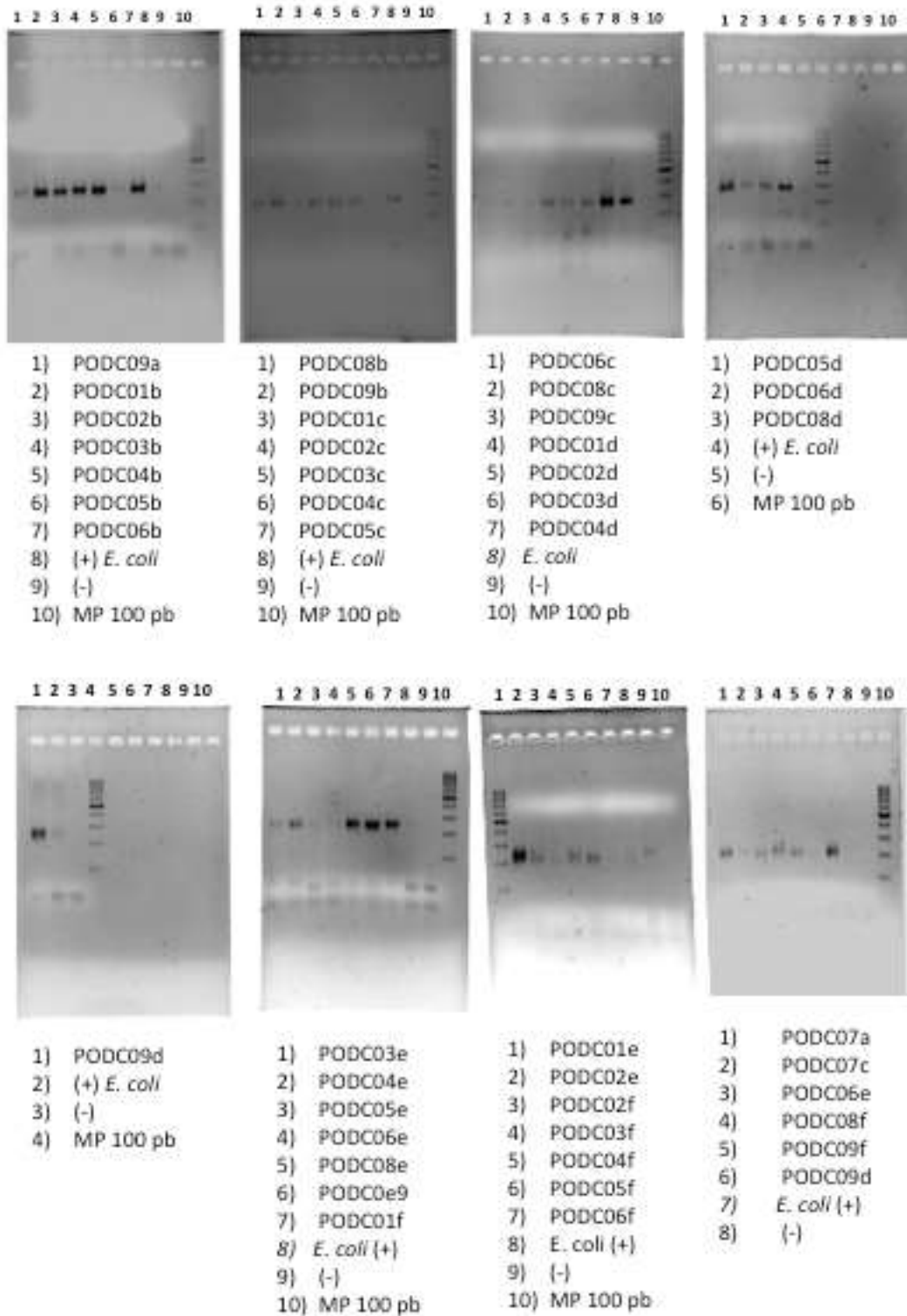
## ANEXO K. Asignación de barcodes por muestra (Continuación)

ID chip2 PODC02	# Primer Forward	BARCODES	ID chip2 PODC02	# Primer Forward	BARCODE
PODC07a	F7	AGTCGTGCACAT	PODM06d	F49	ACGTACTCAGTG
PODC07b	F10	CAAATTCGGGAT	PODM01e	F48	ACAGCAGTGGTC
PODC07c	F17	CACTACGCTAGA	PODM02e	F47	AAGAGATGTCGA
PODC07d	F20	TGGACATCTCTT	PODM03e	F46	AGGACGCACTGT
PODC07e	F33	ACTCACGGTATG	PODM04e	F45	AGCAGTCGCGAT
PODC07f	F30	ACACTGTTCATG	PODM06e	F44	AGACTGCGTACT
PODC09d	F31	ACCAGACGATGC	PODM01f	F43	ACTCGATTCCGAT
PODC01e	F1	GATCTGCGATCC	PODM02f	F42	ACGGTGAGTGTC
PODC02e	F2	CAGCTCATCAGC	PODM03f	F41	ACCGCAGAGTCA
PODC03e	F3	CAAACAACAGCT	PODM04f	F40	AACTGTGCGTAC
PODC04e	F4	GCAACACCATCC	PODM06f	F39	AGCTTGACAGCT
PODC05e	F5	GCGATATATCGC	PODM01g	F38	ACGGATCGTCAG
PODC06e	F6	CGAGCAATCCTA	PODM02g	F37	ACCAGCGACTAG
PODC08e	F8	GTATCTGCGCGT	PODM03g	F36	ACAGACCACTCA
PODC09e	F9	CGAGGGAAAGTC	PODM04g	F35	AGCACGAGCCTA
PODC01f	F11	AGATTGACCAAC	PODM06g	F34	AGACCGTCAGAC
PODC02f	F12	AGTTACGAGCTA			
PODC03f	F13	GCATATGCACTG			
PODC04f	F14	CAACTCCCGTGA			
PODC05f	F15	TTGCGTTAGCAG			
PODC06f	F16	TACGAGCCCTAA			
PODC08f	F18	TGCAGTCCTCGA			
PODC09f	F19	ACCATAGCTCCG			
PODC01g	F21	GAACACTTTGGA			
PODC02g	F22	GAGCCATCTGTA			
PODC03g	F23	TTGGGTACACGT			
PODC04g	F24	AAGGCGTCCTT			
PODC05g	F25	TAATACGGATCG			
PODC06g	F26	TCGGAATTAGAC			
PODC08g	F28	CATTCGTGGCGT			
PODM04d	F50	ACTCGCACAGGA			

## ANEXO K. Asignación de barcodes por muestra (Continuación)

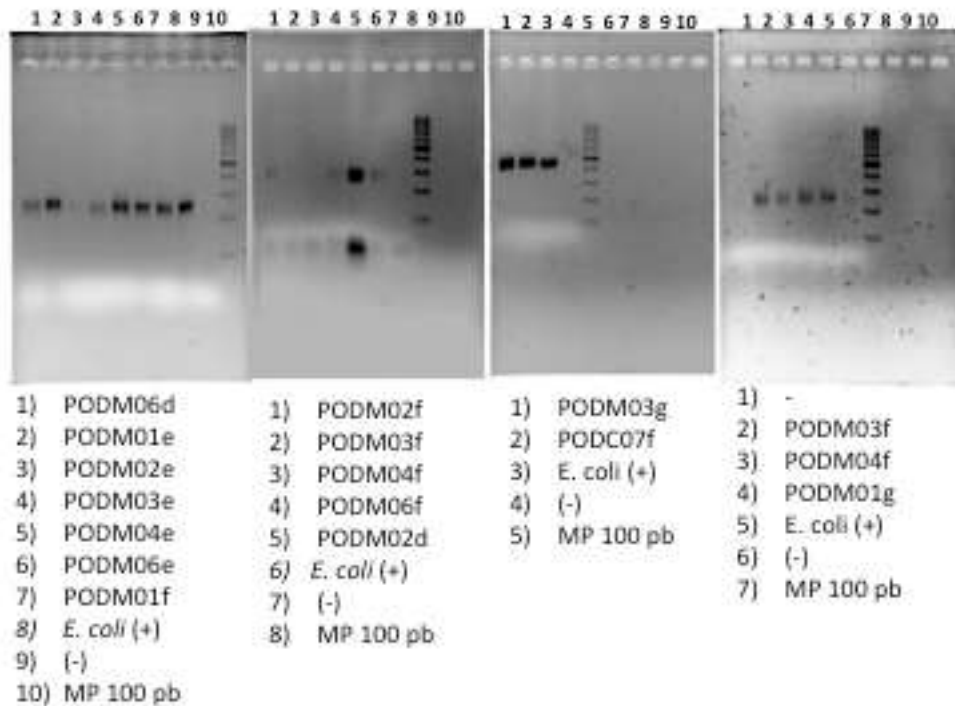
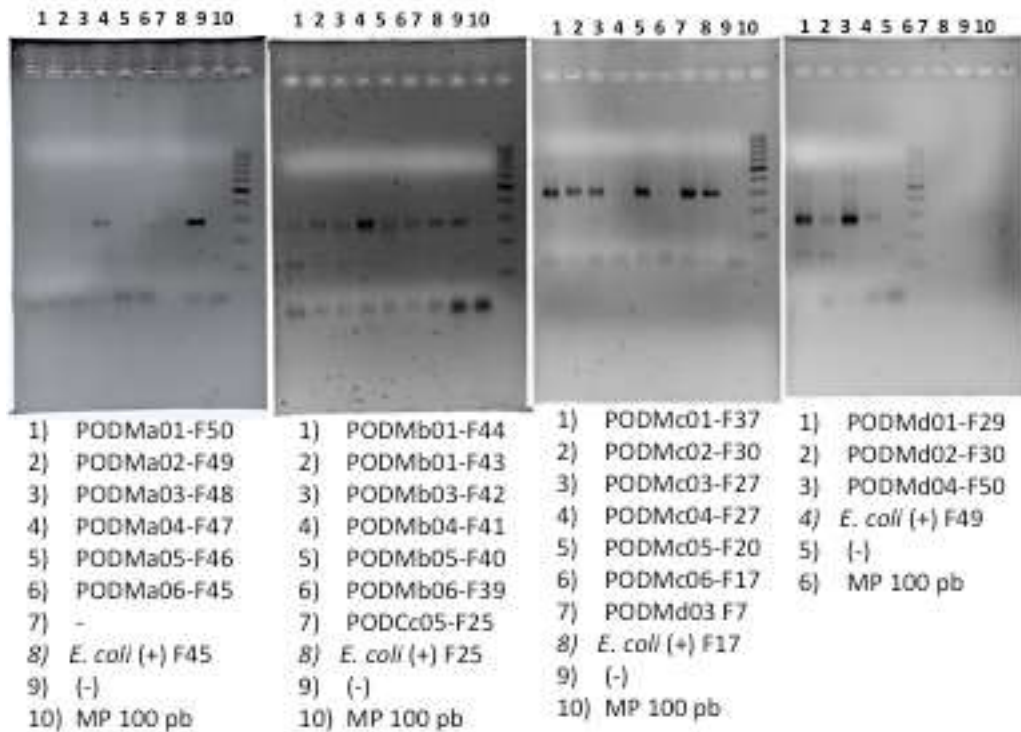
ID chip 3 HXED	# Primer Forward	BARCODE
PODC01a	F46	AGGACGCACTGT
PODC05a	F47	AAGAGATGTCGA
PODC05c	F48	ACAGCAGTGGTC
PODM05a	F49	ACGTACTIONAGTG
PODM01b	F50	ACTCGCACAGGA
ID CHIP 4 HJCV	# Primer Forward	BARCODE
PODC01a	F21	GAACACTTTGGA
PODC03e	F22	GAGCCATCTGTA
PODC07g	F27	TGTGAATTCGGA
PODM01d	F29	AACGCACGCTAG
PODM02d	F30	ACACTGTTTCATG
PODM02e	F31	ACCAGACGATGC
PODM03e	F33	ACTCACGGTATG
PODM06e	F34	AGACCGTCAGAC
PODC07a	F50	ACTCGCACAGGA
PODC03f	F25	TAATACGGATCG
PODC06e	F26	TCGGAATTAGAC
PODC05f	F24	AAGGCGCTCCTT
PODC06f	F23	TTGGGTACACGT

## ANEXO L. Geles de agarosa con productos de PCR para secuenciación de muestras

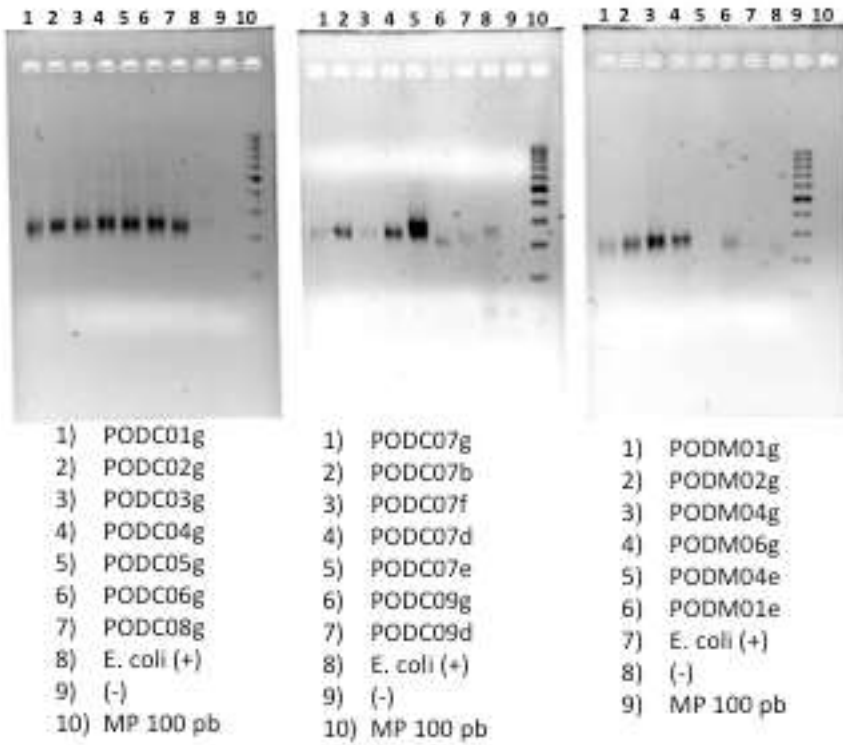




**ANEXO L. Geles de agarosa con productos de pCR para secuenciación de muestras. (continuación)**



**ANEXO L. Geles de agarosa con productos de PCR para secuenciación de muestras. (continuación).**



**ANEXO M. Tabla 1. Distribución taxonómica a partir de los datos de secuenciación para la dieta cetogénica**

Asignaciones taxonómica de las secuencias analizadas para la dieta cetogénica			
<b>46 Phyla</b>	<b>98 Clases</b>	<b>163 Órdenes</b>	<b>256 familias</b>
<i>Phylum</i>	<i>Clase</i>	<i>Orden</i>	<i>Familia</i>
AD3			
<i>Acidobacteria</i>	<i>Acidobacteria-5</i>		
	<i>Acidobacteria-6</i>	<i>iii1-15</i>	<i>mb2424</i>
	<i>Acidobacteriia</i>	<i>Acidobacteriales</i>	<i>Koribacteraceae</i>
	<i>BPC102</i>	<i>B110</i>	
		<i>MVS-40</i>	
	<i>DA052</i>	<i>E29</i>	
		<i>Ellin6513</i>	
	<i>Holophagae</i>		
	<i>OS-K</i>		
	<i>PAUC37f</i>		
	<i>S035</i>		
	<i>Solibacteres</i>	<i>Solibacterales</i>	
	<i>Sva0725</i>	<i>Sva0725</i>	
	<i>[Chloracidobacteria]</i>	<i>o_11-24</i>	
		<i>PK29</i>	
		<i>RB41</i>	
	<i>iii1-8</i>	<i>DS-18</i>	
<i>Actinobacteria</i>	<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Acidimicrobiales</i>	<i>Ellin6075</i>
			<i>C111</i>
			<i>EB1017</i>
			<i>lamiaceae</i>
			<i>koll13</i>
	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>ACK-M1</i>
			<i>Actinomycetaceae</i>
			<i>Actinosynnemataceae</i>
			<i>Brevibacteriaceae</i>
			<i>Cellulomonadaceae</i>
			<i>Corynebacteriaceae</i>
			<i>Cryptosporangiaceae</i>
			<i>Dermabacteraceae</i>
			<i>Dietziaceae</i>
			<i>Frankiaceae</i>
			<i>Geodermatophilaceae</i>
			<i>Glycomycetaceae</i>

<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
			<i>Gordoniaceae</i>
			<i>Intrasporangiaceae</i>
			<i>Kineosporiaceae</i>
			<i>Microbacteriaceae</i>
			<i>Micrococcaceae</i>
			<i>Micromonosporaceae</i>
			<i>Mycobacteriaceae</i>
			<i>Nakamurellaceae</i>
			<i>Nocardiaceae</i>
			<i>Nocardioidaceae</i>
			<i>Nocardiopsaceae</i>
			<i>Promicromonosporaceae</i>
			<i>Propionibacteriaceae</i>
			<i>Pseudonocardiaceae</i>
			<i>Rarobacteraceae</i>
			<i>Ruaniaceae</i>
			<i>Sanguibacteraceae</i>
			<i>Sporichthyaceae</i>
			<i>Streptomycetaceae</i>
			<i>Streptosporangiaceae</i>
			<i>Thermomonosporaceae</i>
			<i>Yaniellaceae</i>
		<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>
	<i>Coriobacteriia</i>	<i>Coriobacteriales</i>	<i>Coriobacteriaceae</i>
	<i>MB-A2-108</i>	<i>0319-7L14</i>	
	<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Nitriliruptorales</i>	<i>Nitriliruptoraceae</i>
	<i>OPB41</i>		
	<i>Rubrobacteria</i>	<i>Rubrobacterales</i>	
	<i>Thermoleophilia</i>	<i>Gaiellales</i>	<i>AK1AB1_02E</i>
			<i>Gaiellaceae</i>
		<i>Solirubrobacterales</i>	<i>Conexibacteraceae</i>
			<i>Patulibacteraceae</i>
<i>Aquificae</i>	<i>Aquificae</i>	<i>Aquificales</i>	<i>Hydrogenothermaceae</i>
<i>BRC1</i>			
<i>Bacteroidetes</i>	<i>At12OctB3</i>		
	<i>BME43</i>		
	<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>BA008</i>
			<i>BS11</i>
			<i>Bacteroidaceae</i>
			<i>Marinilabiaceae</i>

<i>Phylum</i>	<i>Clase</i>	<i>Orden</i>	<i>Familia</i>
			<i>Porphyromonadaceae</i>
			<i>Prevotellaceae</i>
			<i>RF16</i>
			<i>Rikenellaceae</i>
			<i>S24-7</i>
			<i>SB-1</i>
			<i>[Barnesiellaceae]</i>
			<i>[Odoribacteraceae]</i>
			<i>[Paraprevotellaceae]</i>
			<i>p-2534-18B5</i>
	<i>Cytophagia</i>	<i>Cytophagales</i>	<i>Cyclobacteriaceae</i>
			<i>Cytophagaceae</i>
			<i>Flammeovirgaceae</i>
			<i>[Amoebophilaceae]</i>
	<i>Flavobacteriia</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Blattabacteriaceae</i>
			<i>Cryomorphaceae</i>
			<i>Flavobacteriaceae</i>
			<i>[Weeksellaceae]</i>
	<i>SB-5</i>		
	<i>Sphingobacteriia</i>	<i>Sphingobacteriales</i>	<i>Sphingobacteriaceae</i>
	<i>[Rhodothermi]</i>	<i>[Rhodothermales]</i>	<i>Rhodothermaceae</i>
	<i>[Saprospirae]</i>	<i>[Saprospirales]</i>	<i>Chitinophagaceae</i>
			<i>Saprospiraceae</i>
<i>Caldithrix</i>	<i>Caldithrixae</i>	<i>Caldithrixales</i>	<i>Caldithrixaceae</i>
<i>Chlorobi</i>	<i>Ignavibacteria</i>	<i>Ignavibacteriales</i>	<i>Ignavibacteriaceae</i>
			<i>lheB3-7</i>
	<i>OPB56</i>		
<i>Chloroflexi</i>	<i>Anaerolineae</i>	<i>A31</i>	
		<i>Ardenscatenales</i>	<i>Ardenscatenaceae</i>
		<i>Caldilineales</i>	<i>Caldilineaceae</i>
		<i>MSB-1E9</i>	
		<i>OPB11</i>	
		<i>S0208</i>	
		<i>SBR1031</i>	<i>A4b</i>
		<i>SHA-20</i>	
		<i>WCHB1-50</i>	
		<i>envOPS12</i>	
		<i>pLW-97</i>	
	<i>C0119</i>		
	<i>Dehalococcoidetes</i>	<i>GIF9</i>	

<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Orden</b>	<b>Familia</b>
	<i>Ellin6529</i>		
	<i>Gitt-GS-136</i>		
	<i>Ktedonobacteria</i>	<i>Elev-1554</i>	
		<i>JG30-KF-AS9</i>	
	<i>SAR202</i>		
	<i>TK10</i>	<i>AKYG885</i>	<i>5B-12</i>
			<i>Dolo_23</i>
		<i>B07_WMSP1</i>	
	<i>Thermomicrobia</i>	<i>JG30-KF-CM45</i>	
	<i>[Thermobacula]</i>	<i>[Thermobaculales]</i>	<i>[Thermobaculaceae]</i>
<i>Cyanobacteria</i>	<i>4C0d-2</i>	<i>MLE1-12</i>	
		<i>SM2F09</i>	
		<i>YS2</i>	
	<i>Chloroplast</i>	<i>Chlorophyta</i>	<i>Chlamydomonadaceae</i>
		<i>Euglenozoa</i>	<i>Euglenozoa</i>
		<i>Stramenopiles</i>	<i>Stramenopiles</i>
		<i>Streptophyta</i>	<i>Streptophyta</i>
	<i>Gloeobacterophycideae</i>	<i>Gloeobacterales</i>	<i>Gloeobacterales</i>
	<i>Nostocophycideae</i>	<i>Nostocales</i>	
	<i>Oscillatoriohycideae</i>	<i>Chroococcales</i>	<i>Microcystaceae</i>
			<i>Xenococcaceae</i>
		<i>Oscillatoriales</i>	<i>Phormidiaceae</i>
	<i>Synechococcophycideae</i>	<i>Pseudanabaenales</i>	<i>Pseudanabaenaceae</i>
<i>EM19</i>		<i>Synechococcales</i>	<i>Synechococcaceae</i>
<i>Elusimicrobia</i>	<i>Elusimicrobia</i>	<i>Elusimicrobiales</i>	<i>Elusimicrobiaceae</i>
		<i>FAC88</i>	
	<i>Endomicrobia</i>		
<i>Fibrobacteres</i>	<i>Fibrobacteria</i>	<i>Fibrobacterales</i>	<i>Fibrobacteraceae</i>
		<i>Ucp1540</i>	
	<i>TG3</i>	<i>TG3-1</i>	<i>M1PL1-46</i>
<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Alicyclobacillaceae</i>
			<i>Bacillaceae</i>
			<i>Listeriaceae</i>
			<i>Paenibacillaceae</i>
			<i>Planococcaceae</i>
			<i>Staphylococcaceae</i>
			<i>[Exiguobacteraceae]</i>
			<i>[Thermicanaceae]</i>
		<i>Gemellales</i>	<i>Gemellaceae</i>

		<i>Lactobacillales</i>	<i>Aerococcaceae</i>
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
			<i>Carnobacteriaceae</i>
			<i>Enterococcaceae</i>
			<i>Lactobacillaceae</i>
			<i>Leuconostocaceae</i>
			<i>Streptococcaceae</i>
		<i>Turicibacterales</i>	<i>Turicibacteraceae</i>
	<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Caldicoprobacteraceae</i>
			<i>Christensenellaceae</i>
			<i>Clostridiaceae</i>
			<i>Dehalobacteriaceae</i>
			<i>EtOH8</i>
			<i>Eubacteriaceae</i>
			<i>Gracilibacteraceae</i>
			<i>Heliobacteriaceae</i>
			<i>JTB215</i>
			<i>Lachnospiraceae</i>
			<i>Peptococcaceae</i>
			<i>Peptostreptococcaceae</i>
			<i>Ruminococcaceae</i>
			<i>SBYG_4172</i>
			<i>Syntrophomonadaceae</i>
			<i>Veillonellaceae</i>
			<i>[Acidaminobacteraceae]</i>
			<i>[Mogibacteriaceae]</i>
			<i>[Tissierellaceae]</i>
		<i>Halanaerobiales</i>	<i>Halanaerobiaceae</i>
		<i>MBA08</i>	
		<i>Natranaerobiales</i>	<i>Anaerobrancaceae</i>
		<i>OPB54</i>	
		<i>SHA-98</i>	<i>D2</i>
		<i>Thermoanaerobacterales</i>	<i>Thermoanaerobacteraceae</i>
			<i>Thermoanaerobacterales</i> <i>Family III. Incertae Sedis</i>
	<i>Erysipelotrichi</i>	<i>Erysipelotrichales</i>	<i>Erysipelotrichaceae</i>
	<i>OPB54</i>		
<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteriia</i>	<i>Fusobacteriales</i>	<i>Fusobacteriaceae</i>
<i>GN02</i>	<i>GKS2-174</i>		<i>Leptotrichiaceae</i>
	<i>GN10</i>		
<i>GN04</i>			

<i>GOUTA4</i>			
<i>Gemmatimonadetes</i>	<i>Gemm-1</i>		
	<i>Gemm-2</i>		
	<i>Gemm-3</i>		
	<i>Gemm-5</i>		
	<i>Gemmatimonadetes</i>	<i>Gemmatimonadales</i>	
		<i>N1423WL</i>	
<i>KSB3</i>			
<i>LCP-89</i>	<i>SAW1_B44</i>		
<i>Lentisphaerae</i>	<i>[Lentisphaeria]</i>	<i>Victivallales</i>	<i>Victivallaceae</i>
<i>NC10</i>			
<i>NKB19</i>			
<i>Nitrospirae</i>	<i>Nitrospira</i>	<i>Nitrospirales</i>	<i>0319-6A21</i>
			<i>Nitrospiraceae</i>
			<i>[Leptospirillaceae]</i>
			<i>[Thermodesulfovibrionaceae]</i>
<i>OD1</i>			
<i>OP1</i>	<i>MSBL6</i>		
	<i>[Acetothermia]</i>	<i>[Acetothermales]</i>	<i>[Acetothermaceae]</i>
<i>OP8</i>	<i>OP8_1</i>	<i>HMMVPog-54</i>	
<i>OP9</i>	<i>JS1</i>	<i>BA021</i>	
<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>BD7-3</i>	
		<i>Caulobacterales</i>	<i>Caulobacteraceae</i>
		<i>Ellin329</i>	
		<i>Kiloniellales</i>	<i>Kiloniellaceae</i>
		<i>RF32</i>	
		<i>Rhizobiales</i>	<i>Aurantimonadaceae</i>
			<i>Bartonellaceae</i>
			<i>Beijerinckiaceae</i>
			<i>Bradyrhizobiaceae</i>
			<i>Hyphomicrobiaceae</i>
			<i>Methylobacteriaceae</i>
			<i>Methylocystaceae</i>
			<i>Phyllobacteriaceae</i>
			<i>Rhizobiaceae</i>
			<i>Rhodobiaceae</i>
			<i>Xanthobacteraceae</i>
		<i>Rhodobacterales</i>	<i>Hyphomonadaceae</i>
			<i>Rhodobacteraceae</i>
		<i>Rhodospirillales</i>	<i>Acetobacteraceae</i>



			<i>Rhodospirillaceae</i>
		<i>Rickettsiales</i>	<i>Pelagibacteraceae</i>
			<i>Rickettsiaceae</i>
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
			<i>mitochondria</i>
		<i>Sphingomonadales</i>	<i>Erythrobacteraceae</i>
			<i>Sphingomonadaceae</i>
	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>A21b</i>	<i>EB1003</i>
			<i>UD5</i>
		<i>Burkholderiales</i>	<i>Alcaligenaceae</i>
			<i>Burkholderiaceae</i>
			<i>Comamonadaceae</i>
			<i>Oxalobacteraceae</i>
		<i>Gallionellales</i>	<i>Gallionellaceae</i>
		<i>IS-44</i>	
		<i>MND1</i>	
		<i>Methylophilales</i>	<i>Methylophilaceae</i>
		<i>Neisseriales</i>	<i>Neisseriaceae</i>
		<i>Nitrosomonadales</i>	<i>Nitrosomonadaceae</i>
		<i>Rhodocyclales</i>	<i>Rhodocyclaceae</i>
		<i>SC-I-84</i>	
		<i>Thiobacterales</i>	
	<i>Deltaproteobacteria</i>	<i>Bdellovibrionales</i>	<i>Bacteriovoracaceae</i>
			<i>Bdellovibrionaceae</i>
		<i>DTB120</i>	
		<i>Desulfarculales</i>	<i>Desulfarculaceae</i>
		<i>Desulfobacterales</i>	<i>Desulfobacteraceae</i>
			<i>Desulfobulbaceae</i>
			<i>Nitrospinaceae</i>
		<i>Desulfovibrionales</i>	<i>Desulfobalobiaceae</i>
			<i>Desulfovibrionaceae</i>
		<i>Desulfurellales</i>	<i>Desulfurellaceae</i>
		<i>Desulfuromonadales</i>	<i>Geobacteraceae</i>
		<i>MIZ46</i>	
		<i>Myxococcales</i>	<i>0319-6G20</i>
			<i>Cystobacterineae</i>
			<i>Haliangiaceae</i>
			<i>OM27</i>
		<i>NB1-j</i>	
		<i>PB19</i>	
		<i>SAR324</i>	

		<i>Spirobacillales</i>	
		<i>Sva0485</i>	
		<i>Sva0853</i>	<i>S25_1238</i>
			<i>SAR324</i>
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
		<i>Syntrophobacterales</i>	<i>Syntrophaceae</i>
			<i>Syntrophobacteraceae</i>
			<i>Syntrophorhabdaceae</i>
		<i>Thermodesulfobacteriales</i>	<i>Thermodesulfobacteriaceae</i>
		<i>[Entotheonellales]</i>	
	<i>Epsilonproteobacteria</i>	<i>Campylobacterales</i>	<i>Campylobacteraceae</i>
			<i>Helicobacteraceae</i>
		<i>Nautiliales</i>	<i>Nautiliaceae</i>
	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>34P16</i>	
		<i>Aeromonadales</i>	<i>Aeromonadaceae</i>
			<i>Succinivibrionaceae</i>
		<i>Alteromonadales</i>	<i>125ds10</i>
			<i>Alteromonadaceae</i>
			<i>Colwelliaceae</i>
			<i>HTCC2188</i>
			<i>Idiomarinaceae</i>
			<i>J115</i>
			<i>OM60</i>
			<i>Psychromonadaceae</i>
			<i>Shewanellaceae</i>
			<i>[Chromatiaceae]</i>
		<i>Cardiobacteriales</i>	<i>Cardiobacteriaceae</i>
		<i>Chromatiales</i>	<i>Chromatiaceae</i>
			<i>Ectothiorhodospiraceae</i>
			<i>Halothiobacillaceae</i>
		<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
		<i>HOC36</i>	
		<i>Legionellales</i>	<i>Coxiellaceae</i>
			<i>Legionellaceae</i>
		<i>Methylococcales</i>	
		<i>Oceanospirillales</i>	<i>Alcanivoracaceae</i>
			<i>Endozoicimonaceae</i>
			<i>Halomonadaceae</i>
			<i>Oceanospirillaceae</i>
			<i>Oleiphilaceae</i>

			<i>Saccharospirillaceae</i>
		<i>Pasteurellales</i>	<i>Pasteurellaceae</i>
		<i>Pseudomonadales</i>	<i>Moraxellaceae</i>
			<i>Pseudomonadaceae</i>
		<i>Thiohalorhabdales</i>	<i>Thiohalorhabdaceae</i>
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
		<i>Thiotrichales</i>	<i>Piscirickettsiaceae</i>
			<i>Thiotrichaceae</i>
		<i>Vibrionales</i>	<i>Pseudoalteromonadaceae</i>
			<i>Vibrionaceae</i>
		<i>Xanthomonadales</i>	<i>Sinobacteraceae</i>
			<i>Xanthomonadaceae</i>
		<i>[Marinicellales]</i>	<i>[Marinicellaceae]</i>
	TA18	CV90	
	<i>Zetaproteobacteria</i>	<i>Mariprofundales</i>	<i>Mariprofundaceae</i>
SAR406	AB16	Arctic96B-7	Sc-NB04
SBR1093	EC214		
<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>	<i>Sphaerochaetales</i>	Sc-NB04
		<i>Spirochaetales</i>	<i>Sphaerochaetaceae</i>
<i>Synergistetes</i>	<i>Synergistia</i>	<i>Synergistales</i>	<i>Aminiphilaceae</i>
			<i>Dethiosulfovibrionaceae</i>
			<i>Synergistaceae</i>
			<i>Thermovirgaceae</i>
TM6	SBRH58		
	SJA-4	S1198	
TM7	TM7-1		
	TM7-3	CW040	F16
		I025	Rs-045
TPD-58			
<i>Tenericutes</i>	<i>Mollicutes</i>	<i>Acholeplasmatales</i>	<i>Acholeplasmataceae</i>
		<i>Anaeroplasmatales</i>	<i>Anaeroplasmataceae</i>
		RF39	
	RF3	ML615J-28	
<i>Thermotogae</i>	<i>Thermotogae</i>	<i>Thermogales</i>	<i>Thermotogaceae</i>
<i>Verrucomicrobia</i>	Verruco-5	WCHB1-41	RFP12
	<i>Verrucomicrobiae</i>	<i>Verrucomicrobiales</i>	<i>Verrucomicrobiaceae</i>
	<i>[Methylacidiphilae]</i>	<i>Methylacidiphilales</i>	LD19
WPS-2			
WS3	PRR-12	Sediment-1	
WS4			
ZB3	BS119		

<i>[Caldithrix]</i>	<i>KSB1</i>	<i>Ucn15732</i>	
<i>[Thermi]</i>	<i>Deinococci</i>	<i>Deinococcales</i>	<i>Deinococcaceae</i>
			<i>Trueperaceae</i>

**ANEXO N. Tabla 2. Distribución taxonómica a partir de los datos de secuenciación para la dieta mediterránea.**

<b>Asignaciones taxonómicas de las secuencias analizadas para la dieta mediterránea</b>			
<b>41 Phyla</b>	<b>87 Clases</b>	<b>149 Órdenes</b>	<b>227 Familias</b>
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Orden</b>	<b>Familia</b>
AD3	ABS-6		
Acidobacteria	AT-s2-57		
	Acidobacteria-6	BPC015	
		iii1-15	
	Acidobacteriia	Acidobacteriales	Acidobacteriaceae
			Koribacteraceae
	BPC102	B110	
		MVS-40	
	DA052	E29	
		Ellin6513	
	OS-K		
	PAUC37f		
	RB25		
	S035		
	Solibacteres	Solibacterales	PAUC26f
	Sva0725	Sva0725	
	[Chloracidobacteria]	o_11-24	
		DS-100	
		PK29	
		RB41	Ellin6075
	iii1-8	SJA-36	
Actinobacteria	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	C111
			lamiaceae
			wb1_P06
	Actinobacteria	Actinomycetales	ACK-M1
			Actinomycetaceae
			Actinosynnemataceae
			Brevibacteriaceae
			Cellulomonadaceae
			Corynebacteriaceae
			Dermabacteraceae
			Dermacoccaceae
			Dermatophilaceae
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Orden</b>	<b>Familia</b>
			Dietziaceae
			Frankiaceae

			<i>Geodermatophilaceae</i>
			<i>Gordoniaceae</i>
			<i>Intrasporangiaceae</i>
			<i>Kineosporiaceae</i>
			<i>Microbacteriaceae</i>
			<i>Micrococcaceae</i>
			<i>Micromonosporaceae</i>
			<i>Mycobacteriaceae</i>
			<i>Nakamurellaceae</i>
			<i>Nocardiaceae</i>
			<i>Nocardoidaceae</i>
			<i>Promicromonosporaceae</i>
			<i>Propionibacteriaceae</i>
			<i>Pseudonocardiaceae</i>
			<i>Rarobacteraceae</i>
			<i>Sanguibacteraceae</i>
			<i>Sporichthyaceae</i>
			<i>Streptomycetaceae</i>
			<i>Thermomonosporaceae</i>
			<i>Tsukamurellaceae</i>
			<i>Williamsiaceae</i>
			<i>Yaniellaceae</i>
		<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>
	<i>Coriobacteriia</i>	<i>Coriobacteriales</i>	<i>Coriobacteriaceae</i>
	<i>MB-A2-108</i>	<i>0319-7L14</i>	
	<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Nitriliruptorales</i>	<i>Nitriliruptoraceae</i>
	<i>Rubrobacteria</i>	<i>Rubrobacterales</i>	<i>Rubrobacteraceae</i>
	<i>Thermoleophilia</i>	<i>Gaiellales</i>	
		<i>Solirubrobacterales</i>	<i>Conexibacteraceae</i>
			<i>Solirubrobacteraceae</i>
<i>Aquificae</i>	<i>Aquificae</i>		
<i>BHI80-139</i>	<i>MD2896-B26</i>		
<i>BRC1</i>			
<i>Bacteroidetes</i>	<i>BME43</i>		
	<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>BA008</i>
			<i>BS11</i>
			<i>Bacteroidaceae</i>
			<i>Marinilabiaceae</i>
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Orden</b>	<b>Familia</b>
			<i>Porphyromonadaceae</i>
			<i>Prevotellaceae</i>

			RF16
			Rikenellaceae
			S24-7
			SB-1
			[Barnesiellaceae]
			[Odoribacteraceae]
			[Paraprevotellaceae]
	<i>Cytophagia</i>	<i>Cytophagales</i>	<i>Cyclobacteriaceae</i>
			<i>Cytophagaceae</i>
			<i>Flammeovirgaceae</i>
			[ <i>Amoebophilaceae</i> ]
	<i>Flavobacteriia</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Cryomorphaceae</i>
			<i>Flavobacteriaceae</i>
			[ <i>Weeksellaceae</i> ]
	SB-5		
	<i>Sphingobacteriia</i>	<i>Sphingobacteriales</i>	<i>Sphingobacteriaceae</i>
	[ <i>Rhodothermi</i> ]	[ <i>Rhodothermales</i> ]	<i>Rhodothermaceae</i>
	[ <i>Saprospirae</i> ]	[ <i>Saprospirales</i> ]	<i>Chitinophagaceae</i>
			<i>Saprospiraceae</i>
<i>Caldithrix</i>	<i>Caldithrixae</i>	<i>Caldithriales</i>	<i>Caldithrixaceae</i>
<i>Chlorobi</i>	<i>Ignavibacteria</i>	<i>Ignavibacteriales</i>	<i>Ignavibacteriaceae</i>
			<i>lheB3-7</i>
	OPB56		
<i>Chloroflexi</i>	<i>Anaerolineae</i>	<i>Ardenscatenales</i>	<i>Ardenscatenaceae</i>
		<i>Caldilineales</i>	<i>Caldilineaceae</i>
		MSB-1E9	
		OPB11	
		SBR1031	A4b
		SHA-20	
		SJA-15	
	C0119		
	<i>Dehalococcoidetes</i>		
	<i>Ktedonobacteria</i>	<i>Elev-1554</i>	
	S085		
	<i>Thermomicrobia</i>	AKYG1722	
		JG30-KF-CM45	
<i>Cyanobacteria</i>	4C0d-2	YS2	
	<i>Chloroplast</i>	<i>Chlorophyta</i>	<i>Chlamydomonadaceae</i>
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
		<i>Euglenozoa</i>	<i>Gloeobacteraceae</i>
		<i>Stramenopiles</i>	

		<i>Streptophyta</i>	
	<i>Gloeobacterophycideae</i>	<i>Gloeobacterales</i>	
	<i>ML635J-21</i>		
	<i>Nostocophycideae</i>	<i>Stigonematales</i>	<i>Rivulariaceae</i>
	<i>Oscillatoriohycideae</i>	<i>Chroococcales</i>	<i>Microcystaceae</i>
			<i>Xenococcaceae</i>
		<i>Oscillatoriales</i>	<i>Phormidiaceae</i>
	<i>Synechococcophycideae</i>	<i>Pseudanabaenales</i>	<i>Pseudanabaenaceae</i>
<i>Elusimicrobia</i>	<i>Elusimicrobia</i>	<i>FAC88</i>	
	<i>Endomicrobia</i>		
<i>Fibrobacteres</i>	<i>Fibrobacteria</i>	<i>258ds10</i>	
		<i>Fibrobacterales</i>	<i>Fibrobacteraceae</i>
		<i>Ucp1540</i>	
	<i>TG3</i>	<i>TG3-1</i>	<i>M1PL1-46</i>
			<i>MAT-CR-H6-H10</i>
<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Alicyclobacillaceae</i>
			<i>Bacillaceae</i>
			<i>Paenibacillaceae</i>
			<i>Planococcaceae</i>
			<i>Staphylococcaceae</i>
			<i>[Exiguobacteraceae]</i>
		<i>Gemellales</i>	<i>Gemellaceae</i>
		<i>Lactobacillales</i>	<i>Aerococcaceae</i>
			<i>Carnobacteriaceae</i>
			<i>Enterococcaceae</i>
			<i>Lactobacillaceae</i>
			<i>Leuconostocaceae</i>
			<i>Streptococcaceae</i>
		<i>Turicibacterales</i>	<i>Turicibacteraceae</i>
	<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Caldicoprobacteraceae</i>
			<i>Christensenellaceae</i>
			<i>Clostridiaceae</i>
			<i>Dehalobacteriaceae</i>
			<i>EtOH8</i>
			<i>Eubacteriaceae</i>
			<i>Gracilibacteraceae</i>
			<i>Heliobacteriaceae</i>
			<i>JTB215</i>
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
			<i>Lachnospiraceae</i>
			<i>Peptococcaceae</i>



			<i>Peptostreptococcaceae</i>
			<i>Ruminococcaceae</i>
			<i>Syntrophomonadaceae</i>
			<i>Veillonellaceae</i>
			[ <i>Acidaminobacteraceae</i> ]
			[ <i>Mogibacteriaceae</i> ]
			[ <i>Tissierellaceae</i> ]
		<i>Halanaerobiales</i>	<i>Halanaerobiaceae</i>
		<i>MBA08</i>	
		<i>Natranaerobiales</i>	<i>Anaerobranaceae</i>
		<i>OPB54</i>	
		<i>SHA-98</i>	
	<i>Erysipelotrichi</i>	<i>Erysipelotrichales</i>	<i>Erysipelotrichaceae</i>
	<i>OPB54</i>		
<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteriia</i>	<i>Fusobacteriales</i>	<i>Fusobacteriaceae</i>
			<i>Leptotrichiaceae</i>
<i>GAL15</i>			
<i>GN02</i>	<i>GKS2-174</i>		
<i>GOUTA4</i>			
<i>Gemmatimonadetes</i>	<i>Gemm-1</i>		
	<i>Gemm-2</i>		
	<i>Gemm-3</i>		
	<i>Gemm-5</i>		
	<i>Gemmatimonadetes</i>	<i>N1423WL</i>	
<i>KSB3</i>			
<i>Lentisphaerae</i>	[ <i>Lentisphaeria</i> ]	<i>Victivallales</i>	<i>Victivallaceae</i>
<i>MAT-CR-M4-B07</i>			
<i>NC10</i>			
<i>Nitrospirae</i>	<i>Nitrospira</i>	<i>Nitrospirales</i>	<i>0319-6A21</i>
			<i>Nitrospiraceae</i>
			[ <i>Leptospirillaceae</i> ]
			[ <i>Thermodesulfovibrionaceae</i> ]
<i>OD1</i>			
<i>OP1</i>	<i>MSBL6</i>		
	[ <i>Acetothermia</i> ]	[ <i>Acetothermales</i> ]	
<i>Planctomycetes</i>	<i>Phycisphaerae</i>	<i>Phycisphaerales</i>	
<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>BD7-3</i>	
		<i>Caulobacterales</i>	
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
		<i>Ellin329</i>	

		<i>Kiloniellales</i>	<i>Caulobacteraceae</i>
		<i>Kordiimonadales</i>	<i>Kordiimonadaceae</i>
		<i>RF32</i>	
		<i>Rhizobiales</i>	<i>Aurantimonadaceae</i>
			<i>Bartonellaceae</i>
			<i>Beijerinckiaceae</i>
			<i>Bradyrhizobiaceae</i>
			<i>Hyphomicrobiaceae</i>
			<i>Methylobacteriaceae</i>
			<i>Methylocystaceae</i>
			<i>Phyllobacteriaceae</i>
			<i>Rhizobiaceae</i>
			<i>Rhodobiaceae</i>
		<i>Rhodobacterales</i>	<i>Hyphomonadaceae</i>
			<i>Rhodobacteraceae</i>
		<i>Rhodospirillales</i>	<i>Acetobacteraceae</i>
			<i>Rhodospirillaceae</i>
		<i>Rickettsiales</i>	<i>Anaplasmataceae</i>
			<i>Pelagibacteraceae</i>
			<i>Rickettsiaceae</i>
		<i>Sphingomonadales</i>	<i>Erythrobacteraceae</i>
			<i>Sphingomonadaceae</i>
	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>A21b</i>	<i>EB1003</i>
		<i>Burkholderiales</i>	<i>Alcaligenaceae</i>
			<i>Burkholderiaceae</i>
			<i>Comamonadaceae</i>
			<i>Oxalobacteraceae</i>
		<i>Ellin6067</i>	
		<i>IS-44</i>	
		<i>MND1</i>	
		<i>Methylophilales</i>	<i>Methylophilaceae</i>
		<i>Neisseriales</i>	<i>Neisseriaceae</i>
		<i>Nitrosomonadales</i>	<i>Nitrosomonadaceae</i>
		<i>Procabacteriales</i>	<i>Procabacteriaceae</i>
		<i>Rhodocyclales</i>	<i>Rhodocyclaceae</i>
		<i>SC-I-84</i>	
		<i>Thiobacterales</i>	
	<i>Deltaproteobacteria</i>	<i>Bdellovibrionales</i>	<i>Bacteriovoracaceae</i>
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
			<i>Bdellovibrionaceae</i>
		<i>DTB120</i>	

		<i>Desulfobacterales</i>	<i>Desulfobacteraceae</i>
			<i>Desulfobulbaceae</i>
			<i>Nitrospinaceae</i>
		<i>Desulfovibrionales</i>	<i>Desulfohalobiaceae</i>
			<i>Desulfomicrobiaceae</i>
			<i>Desulfovibrionaceae</i>
		<i>Desulfurellales</i>	<i>Desulfurellaceae</i>
		<i>Desulfuromonadales</i>	<i>Geobacteraceae</i>
		<i>FAC87</i>	
		<i>GMD14H09</i>	
		<i>Myxococcales</i>	<i>Cystobacterineae</i>
			<i>OM27</i>
		<i>PB19</i>	
		<i>Spirobacillales</i>	
		<i>Sva0853</i>	<i>SAR324</i>
		<i>Syntrophobacterales</i>	<i>Syntrophaceae</i>
			<i>Syntrophobacteraceae</i>
		<i>Thermodesulfobacteriales</i>	<i>Thermodesulfobacteriaceae</i>
		<i>[Entotheonellales]</i>	
	<i>Epsilonproteobacteria</i>	<i>Campylobacterales</i>	<i>Campylobacteraceae</i>
			<i>Helicobacteraceae</i>
		<i>Nautiliales</i>	<i>Nautiliaceae</i>
	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>34P16</i>	
		<i>Aeromonadales</i>	<i>Aeromonadaceae</i>
			<i>Succinivibrionaceae</i>
		<i>Alteromonadales</i>	<i>Alteromonadaceae</i>
			<i>Colwelliaceae</i>
			<i>HTCC2188</i>
			<i>Idiomarinaceae</i>
			<i>OM60</i>
			<i>Psychromonadaceae</i>
			<i>Shewanellaceae</i>
		<i>Cardiobacteriales</i>	<i>[Chromatiaceae]</i>
		<i>Chromatiales</i>	<i>Cardiobacteriaceae</i>
			<i>Chromatiaceae</i>
			<i>Ectothiorhodospiraceae</i>
			<i>Halothiobacillaceae</i>
		<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
		<i>HOC36</i>	

		<i>HTCC2188</i>	
		<i>Legionellales</i>	<i>Coxiellaceae</i>
			<i>Francisellaceae</i>
			<i>Legionellaceae</i>
		<i>Methylococcales</i>	
		<i>Oceanospirillales</i>	<i>Alcanivoracaceae</i>
			<i>Endozoicimonaceae</i>
			<i>Halomonadaceae</i>
			<i>Oceanospirillaceae</i>
		<i>Pasteurellales</i>	<i>Pasteurellaceae</i>
		<i>Pseudomonadales</i>	<i>Moraxellaceae</i>
			<i>Pseudomonadaceae</i>
		<i>Thiohalorhabdales</i>	
		<i>Thiotrichales</i>	<i>Piscirickettsiaceae</i>
			<i>Thiotrichaceae</i>
		<i>Vibrionales</i>	<i>Pseudoalteromonadaceae</i>
			<i>Vibrionaceae</i>
		<i>Xanthomonadales</i>	<i>Sinobacteraceae</i>
			<i>Xanthomonadaceae</i>
		<i>[Marinicellales]</i>	<i>[Marinicellaceae]</i>
	<i>Zetaproteobacteria</i>	<i>Mariprofundales</i>	<i>Mariprofundaceae</i>
<i>SAR406</i>	<i>AB16</i>	<i>Arctic96B-7</i>	<i>A714017</i>
<i>SBR1093</i>			
<i>SR1</i>			
<i>Spirochaetes</i>	<i>MVP-15</i>	<i>PL-11B10</i>	
	<i>Spirochaetes</i>	<i>Sphaerochaetales</i>	<i>Sphaerochaetaceae</i>
		<i>Spirochaetales</i>	<i>Spirochaetaceae</i>
<i>Synergistetes</i>	<i>Synergistia</i>	<i>Synergistales</i>	<i>Aminiphilaceae</i>
			<i>Dethiosulfovibrionaceae</i>
			<i>Synergistaceae</i>
			<i>TTA_B6</i>
			<i>Thermovirgaceae</i>
<i>TM6</i>	<i>SBRH58</i>		
	<i>SJA-4</i>	<i>S1198</i>	
<i>TM7</i>	<i>TM7-3</i>	<i>CW040</i>	<i>F16</i>
		<i>I025</i>	<i>Rs-045</i>
<i>Tenericutes</i>	<i>Mollicutes</i>	<i>Acholeplasmatales</i>	<i>Acholeplasmataceae</i>
		<i>Anaeroplasmatales</i>	<i>Anaeroplasmataceae</i>
		<i>RF39</i>	
<b>Phylum</b>	<b>Clase</b>	<b>Órden</b>	<b>Familia</b>
	<i>RF3</i>	<i>ML615J-28</i>	

<i>Thermotogae</i>	<i>Thermotogae</i>	<i>Thermotogales</i>	<i>Thermotogaceae</i>
<i>Verrucomicrobia</i>	<i>Verruco-5</i>	<i>WCHB1-41</i>	<i>RFP12</i>
	<i>Verrucomicrobiae</i>	<i>Verrucomicrobiales</i>	<i>Verrucomicrobiaceae</i>
<i>WPS-2</i>			
<i>[Caldithrix]</i>	<i>KSB1</i>	<i>Ucn15732</i>	
<i>[Thermi]</i>	<i>Deinococci</i>	<i>Deinococcales</i>	<i>Deinococcaceae</i>

**ANEXO O. Tabla 3. Géneros bacterianos (79) encontrados antes de iniciar la dieta cetogénica (tiempo 0) y ausentes a su término (tiempo 3/ semana 9)**

<b>Géneros bacterianos (79) encontrados antes de iniciar la dieta cetogénica (tiempo 0) y ausentes a su término (tiempo 3/ semana 9).</b>		
Acidocella	Colwellia	Myroides
Actinobacillus	Coriobacterium	Natronincola_Anaerovirgula
Actinomadura	Couchioplanes	Oceanicaulis
Actinoplanes	Crocinitomix	Oceanobacillus
Aeriscardovia	Curtobacterium	Ornithobacterium
Agrobacterium	Delftia	Pilimelia
Alicyclobacillus	Desulfitispora	Plesiomonas
Alvinella	Desulfococcus	Psychrilyobacter
Anaerococcus	Desulfotomaculum_Desulfoviregula	Pyramidobacter
Anaerofustis	Desulfovermiculus	RFN20
Anaeroplasma	Desulfurispora	Roseomonas
Anaerovibrio	Enterovibrio	Salinispora
Anoxybacillus	1-68	Simplicispira
BE24	Gallicola	Sporobacter
Blastococcus	Geobacillus	Sporosarcina
Blattabacterium	Gluconacetobacter	Tannerella
Brevibacterium	Guggenheimella	Tepidibacter
Buchnera	Halochromatium	Thalassomonas
Campylobacter	Helicobacter	Thermomonas
Candidatus Endobugula	HTCC2207	Trabulsiella
Candidatus Solibacter	Kingella	Treponema
Carnobacterium	Leptotrichia	Truepera
Catenuloplanes	Lonepinella	Vagococcus
cc_115	Luteimonas	Variovorax
Chitinophaga	Lysinibacillus	Xenorhabdus
Chryseobacterium	Marinobacter	
Cloacibacterium	Mycoplana	

**ANEXO P. Tabla 4. Géneros bacterianos (84) encontrados al término de la dieta cetogénica (tiempo 3/semana9) y ausentes antes de la intervención**

<b>Géneros bacterianos (84) encontrados al término de la dieta cetogénica (tiempo 3/semana9) y ausentes antes de la intervención.</b>		
5-7N15	ecb11	Propionicimonas
Aeromicrobium	Fibrobacter	Proteiniclasticum
AF12	Flavisolibacter	PSB-M-3
Alcaligenes	G07	Psychromonas
Alkalibacterium	Geobacter	PW3
Alteromonas	Geosporobacter_Thermotalea	Rarobacter
Anaerobranca	GW-34	Rhodoplanes
Anaerovorax	Haloglycomyces	Rikenella
Aquicella	Hymenobacter	Roseateles
Arcanobacterium	Hyphomicrobium	Rubroacter
Asteroleplasma	Hyphomonas	Saccharopolyspora
Asteroleplasma	JG37-AG-70	Salinicoccus
Azospira	L7A_E11	Salmonella
Azospirillum	Lautropia	Selenomonas
Balneimonas	Leptolyngbya	Sinorhizobium
Blastomonas	Methylotenera	Spirosoma
Caminiabacter	Niigata-25	Sulcia
Candidatus Tammella	Nitrosomonas	Sulfuritalea
Candidatus Tammella	Nitrospira	Thermodesulfovibrio
Catonella	Ornithinibacillus	Thermovenabulum
Cellulomonas	Owenweeksia	Thiomicrospira
Cetobacterium	Oxobacter	vadinCA02
Clavibacter	Paulinella	vadinCA02
Clostridium	Pelosinus	Verrucomicrobium
Clostridium	Photobacterium	Verrucomicrobium
Cryocola	Photobacterium	WCHB1-84
Cupriavidus	Piscirickettsia	Weeksella
Dickeya	Prauserella	ZD0117

**ANEXO Q. Tabla 5. Géneros bacterianos encontrados exclusivamente en el grupo de dieta cetogénica (130)**

<b>Géneros bacterianos encontrados exclusivamente en el grupo de dieta cetogénica (130).</b>				
Acidocella	Cellulosibacter	Gluconacetobacter	Pectinatus	Sulcia
Actinomycetospora	Chelonobacter	Glycomyces	Pedomicrobium	Sulfuricurvum
Actinotalea	Chitinophaga	Haloglycomyces	Persephonella	Swaminathania
Alkalibacterium	Citricoccus	Halorhodospira	Petrobacter	Synechococcus
Allobaculum	Colwellia	Helcococcus	Petrogoga	Tannerella
Anaerofilum	Coriobacterium	Hymenobacter	Piscirickettsia	Tessaracoccus
Aquicella	Cryocola	Janthinobacterium	Plesiomonas	Thalassomonas
Arenimonas	Cupriavidus	Jeotgalicoccus	Pontibacillus	Thalassospira
Arsenicococcus	DCE29	Kaistia	Pontibacter	Thermicanus
Balneimonas	Dermabacter	Labrys	Prauserella	Thermocrispum
BE24	Desulfitispora	Lautropia	PSB-M-3	Thermodesulfovibrio
Blastococcus	Desulfobulbus	Limnobacter	Rheinheimera	Thermomonas
Blattabacterium	Desulfonauticus	Luteimonas	Rhodopila	Thermovenabulum
Brochothrix	Desulfotalea	Luteococcus	Rhodovarius	Thioalkalimicrobium
BSV43	Dok59	Lysinibacillus	Rickettsia	Truepera
Butyricococcus	Dokdonella	Macrocooccus	Rubellimicrobium	vadinHB04
Caldanaerocella	Dyadobacter	Magnetospirillum	Ruminobacter	Varibaculum
Candidatus Acetothermum	Edaphobacter	Marinibacillus	Rummeliibacillus	Variovorax
Candidatus Blochmannia	Fervidobacterium	Marinitoga	Saccharopolyspora	Victoria
Candidatus Endobugula	Frankia	Marinobacter	Salinicoccus	Wandonia
Candidatus Regiella	Fulvimarina	Micrococcus	Salinispora	Wautersiella
Candidatus Rhodoluna	Gallibacterium	N09	Sediminibacterium	WCHB1-84
Carnobacterium	Gallionella	Neptunomonas	Shigella	Xanthobacter
Catellatospora	Garciella	Nitrospira	Sporobacter	Xanthomonas
Catenuloplanes	Gemella	Oceanobacillus	Sporomusa	Xenorhabdus
cc_115	Geobacillus	Paulinella	Sporosarcina	ZD0117



**ANEXO R. Tabla 6. Géneros bacterianos encontrados exclusivamente en el grupo de dieta mediterránea (51)**

**Géneros bacterianos encontrados exclusivamente en el grupo de dieta mediterránea (51).**

Acidaminobacter	Dechloromonas	Procabacter
Actinocorallia	Dermacoccus	Profftia
Actinopolymorpha	Desulfonatronovibrio	Promicromonospora
Adhaeribacte	Erythromicrobium	Reichenbachiella
Albidovulum	Facklamia	Rivularia
Alloscardovia	Flaviumibacter	Roseococcus
Amycolatopsis	Gluconacetobacte	SGSH944
Aquabacterium	Halothiobacillus	Sodalis
Arcanobacterium	Kosmotoga	Sporocytophaga
Asticcacaulis	Leadbetterella	Thauera
Brachymonas	Legionella	Thermovirga
Caldilinea	Leptospirillum	Thiomonas
Candidatus Solibacter	Octadecabacter	Thiopilula
Clostridiisalibacter	p-75-a5	Vibrio
Coccinistipes	Parvibaculum	Williamsia
Cocleimonas	Perlucidibaca	Zhihengliuella
Cohnella	Piscicoccus	

**ANEXO S. Tabla 7. Géneros bacterianos presentes al término de la dieta cetogénica (semana 9) (116)**

<b>Géneros bacterianos presentes al término de la dieta cetogénica (semana 9) (116)</b>				
Acidaminococcus	Congregibacter	Lautropia	Peptococcus	Shewanella
Aeromicrobium	Coprobacillus	Leptolyngbya	Phenylobacterium	Sinorhizobium
Aggregatibacter	Cryocola	Methylotenera	Piscirickettsia	Sphingobium
Alcaligenes	Cupriavidus	Microbacterium	Polynucleobacter	Spirosoma
Alcanivorax	Dickeya	Microbispora	Prauserella	Sporanaerobacter
Alkalibacterium	ecb11	Microcystis	Propionicimonas	Steroidobacter
Allobaculum	Enhydrobacter	Mogibacterium	Proteiniclasticum	Succiniclasticum
Aminiphilus	Fibrobacter	Neisseria	Proteus	Sulcia
Aminobacterium	Flavisolibacter	Nesterenkonia	Providencia	Synechococcus
Anaerobranca	Frigoribacterium	Niigata-25	PSB-M-3	Syntrophomonas
Anaerovorax	G07	Nitrosomonas	Pseudoramibacter_Eu bacterium	Thalassospira
Aquicella	Garciella	Nitrospira	Psychrobacter	Thermodesulfovibrio
Arcanobacterium	Geosporobacter_Therm otalea	Nocardia	Psychromonas	Thermovenabulum
Asteroleplasma	Glaciecola	Nocardioides	Ralstonia	Thiomicrospira
Azospirillum	Gordonia	Ornithinibacillus	Rarobacter	Verrucomicrobium
Balneimonas	HA73	Owenweeksia	Rhizobium	Wautersiella
BD2-13	Haloglycomyces	Oxobacter	Rhodococcus	WCHB1-84
Blastomonas	Halomonas	Paenibacillus	Rubrobacter	Weeksella
Caminibacter	HTCC	Pantoea	Saccharopolyspora	Xylanimicrobium
Candidatus Acetothermum	Hymenobacter	Paracraurococcus	Salinicoccus	ZD0117
Candidatus Tammella	Hyphomicrobium	Paulinella	Salmonella	
Cellulomonas	JG37-AG-70	PD-UASB-13	Scardovia	
Clavibacter	Kribbella	Pelosinus	Sedimentibacter	
Colwellia	L7A_E11	Pelotomaculum	Selenomonas	

**ANEXO T. Tabla 8. Géneros bacterianos presentes al término de la dieta mediterránea (semana 9) (26)**

**Géneros bacterianos presentes al término de la dieta mediterránea (semana 9) (26).**

Actinobacillus	Campylobacter	Polaribacter
Actinomadura	Cohnella	Procabacter
Actinoplanes	Desulfococcus	Pyramidobacter
Actinopolymorpha	Desulfonatronovibrio	Rivularia
Afifella	Desulfurispora	Ruminococcus
Alicyclobacillus	Helicobacter	Synergistes
Anaerofustis	Leadbetterella	Trabulsiella
Aquimonas	Octadecabacter	Williamsia
Ardenscatena	Ornithobacterium	

**ANEXO U. Tabla 9. Géneros presentes durante ambas dietas en todos los tiempos analizados (12)**

**Géneros presentes durante ambas dietas en todos los tiempos analizados (12).**

Lachnospira	Fusibacter	Roseburia
Dorea	Paraprevotella	Blautia
Coprococcus	Bacteroides	Parabacteroides
Ruminococcus	Faecalibacterium	Prevotella

- FIN DE TEXTO -