



**Centro de Investigación en
Alimentación y Desarrollo, A.C.**

**ASOCIACIÓN DE LA COMPOSICIÓN BACTERIANA DE
LA MICROBIOTA INTESTINAL CON LOS
COMPONENTES DE LA DIETA Y LA PRESENCIA DE
OBESIDAD EN ADULTOS**

Por:

Karla Azucena González Martínez

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

Como requisito parcial para obtener el grado de

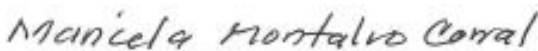
MAESTRÍA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Karla Azucena González Martínez, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



Dra. Silvia Y. Moya Camarena
Directora de Tesis



Dra. Maricela Montalvo Corral
Asesora



Dra. Graciela Caire Juvera
Asesora



Dra. Martha Nydia Ballesteros Vázquez
Asesora

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa aprobación escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.

Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a las instituciones que lograron que este proyecto se llevara a cabo. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), al Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social (SS/IMSS/ISSSTE-CONACyT) por el financiamiento del proyecto (SALUD-2013-01-201746) y al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C (CIAD).

Gracias a mi directora de tesis Dra. Silvia Moya por todo el apoyo y paciencia que me tuvo a lo largo de estos dos años y medio, sin su guía este trabajo no se hubiera logrado, siempre estaré agradecida por su apoyo. A mis asesoras, Dra. Maricela Montalvo gracias por su apoyo y enseñarme todo lo relacionado al trabajo de laboratorio, gracias por sus consejos y siempre tener una respuesta para mis dudas. Dra. Graciela Caire por apoyarme con el estadístico de este proyecto y a la Dra. Martha N. Ballesteros por la ayuda con el cuestionario de frecuencia y el diario de actividad física.

Gracias a la Jurisdicción Sanitaria No.1 por el apoyo, las facilidades e instalaciones prestadas para poder realizar este trabajo, a la Dra. Ibáñez, Dr. Pérez Duarte, al nutriólogo Horacio Gámez y a todo el personal del área de enseñanza. Además gracias a Brysseida Oropeza de la planta procesadora de alimentos BACHOCO por abrirnos las puertas y darnos las facilidades para invitar al personal a nuestro proyecto; en especial agradezco a la nutrióloga Sol Serrano por el tiempo y apoyo en este trabajo, en especial por estos años de amistad gracias por siempre preguntarme ¿Cómo vas Karlita?

A mis bebés Patty y Lupita, Patty gracias por tu cariño, ocurrencias y siempre estar ahí cuando te necesito, Lupita gracias por tu apoyo, pláticas, cafés y libros que tanto me gusta compartir contigo, niñas las adoro gracias por ser tan lindas conmigo y gracias por su amistad.

A todos mis compañeros de laboratorio, Lorena e Itzel gracias por su apoyo, las pláticas y por alegrar los días con sus ocurrencias, Hector sin gracias por tu amistad y siempre estar ahí para resolver mis dudas, créeme nunca olvidare $C1 V1 = C2 V2$, JÓse mi compañera de trabajo, gracias por compartir este tiempo y apoyar en la realización de este trabajo, Edgar gracias por ayudarme cuando te lo pedía siempre con una respuesta para mis preguntas, al laboratorio de Fisiología y Biología Molecular de Plantas en especial a Eduardo gracias por tu apoyo en el laboratorio, soportar mis cambios de humor y darme ánimo, gracias por creer en mí y estar al pendiente de mi trabajo.

A Cynthia gracias por aguantarme este tiempo, por entender que estaba ocupada y no contestarte los mensajes, agradezco todo el apoyo y las palabras de ánimo eres la mejor, Caro gracias por estar al pendiente, una vez me dijiste que ir a un seminario no era suficiente apoyo para mi significa mucho, también gracias Mirna, Grethel, Cuichi, por siempre preocuparse por mí, las quiero mucho niñas.

Luis y Víctor que no están cerca pero con un mensaje o una llamada siempre estuvieron apoyándome, en especial Luis gracias por soportar mis llamadas y llanto siempre que lo necesitaba.

Quiero también agradecer a mis padres por el apoyo a lo largo de estos dos años y medio, gracias por el ánimo cuando surgieron las dudas y pensé que no lo lograría, sin ustedes esto no hubiera sido posible.

A mi hermana, Susana gracias por siempre estar ahí con tu carrilla y no dejar que olvidara que me tarde en terminar, gracias también por esa sobrina tan maravillosa que trae tanta alegría a mi vida las amo.

DEDICATORIA

A mis padres, sin su apoyo esto no hubiera sido posible, gracias por alentarme a querer superarme y ser mejor persona.

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABLAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I.- INTRODUCCIÓN.....	1
II.- ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION.....	5
II.1. Microbiota Intestinal	5
II.1.1 Funciones de la Microbiota Intestinal.....	5
II.1.2. Composición de la MI en el Sistema Digestivo	6
II.1.3. Establecimiento y Cambios de la Microbiota Intestinal Durante la Vida.....	7
II. 2.- Microbiota Intestinal y Obesidad.....	8
II. 2.1. Presencia de MI y su efecto en el desarrollo de obesidad.....	9
II.2.2 Proporción relativa de los filos Bacteroidetes y Firmicutes y su asociación con obesidad	9
II. 2. 3 Asociación de los géneros bacterianos que conforman la MI y obesidad	11
II. 3.- Mecanismos de la Asociación de la Microbiota Intestinal y Obesidad	12
II.3.1. Obtención y Almacenamiento de Energía	12
II.3.2. Modulación de genes involucrados en la regulación del apetito y señalización	13
II.3.3. Microbiota intestinal e inflamación	15
II.4.- Dieta y Modulación de la Microbiota Intestinal	18
II.4.1. Componentes dietarios asociados con enterotipos o filos bacterianos ...	19
II.4.2. Componentes dietarios asociados con el predominio de géneros bacterianos específicos.....	20
III.- HIPOTESIS.....	23
IV.- OBJETIVOS.....	24
IV.1. General	24
IV.2. Objetivos Particulares.....	24
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
V.1. Diseño y sujetos de estudio.....	25

V.2. Evaluación antropométrica y de composición corporal.....	25
V.2.1. Peso corporal	25
V.2.2. Talla	26
V.2.3. Índice de Masa Corporal (IMC)	26
V.2.4. Circunferencia de cintura y cadera	26
V.2.5. Composición corporal	27
V.3. Evaluación de actividad física	27
V.4. Análisis Dietario.....	28
V.5. Colección de muestra de heces.....	29
V.6. Protocolo de extracción de ADN genómico	29
V.7. Cuantificación de ADN	30
V.8. Determinación de géneros bacterianos de la MI selectos	30
VI. RESULTADOS.....	34
VI.1 Características de la población	34
VI.2. Análisis de la dieta	35
VI.3 Identificación de los géneros bacterianos representativos presentes en la microbiota intestinal	36
VI.3. Asociación entre géneros bacterianos y obesidad	38
VII. DISCUSIÓN	43

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 Amplificación relativa de los géneros bacterianos	37

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla 1.- Grupos de alimentos evaluados en cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos	28
Tabla 2.- Secuencias de iniciadores utilizados en qPCR para el análisis de géneros y especies representativas de la microbiota intestinal.	32
Tabla 3.- Características antropométricas, composición corporal y de actividad física de los sujetos con y sin obesidad.	34
Tabla 4.- Componentes dietarios evaluados con el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos en participantes con y sin obesidad.	35
Tabla 5.- Asociación de géneros bacterianos con las variables antropométricas y de composición corporal para determinar obesidad en el total de la población.	39
Tabla 6.- Asociación de géneros bacterianos y componentes de la dieta en el total de la población	42

RESUMEN

La presencia de obesidad está influenciada por varios factores como la dieta, sedentarismo, genética y recientemente se ha asociado a la microbiota intestinal (MI) como un factor involucrado. La microbiota intestinal presenta funciones metabólicas e inmunológicas en el hospedero que le permiten obtener mayor energía de la dieta y originar procesos de inflamación que pueden contribuir a la ganancia de peso. Se ha reportado que la proporción de Firmicutes/Bacteroidetes se encuentra alterada en personas con obesidad; sin embargo los resultados en diferentes estudios, no son consistentes. Se han identificado géneros bacterianos dentro de estos filos que son modificados por la dieta y algunos de ellos, asociados con obesidad. El objetivo del estudio fue determinar si existe asociación entre la presencia de ciertos géneros y la obesidad, el consumo de carbohidratos, grasas y fibra. Para Bacteroidetes se incluyeron *Bacteroides/Prevotella*; Actinobacteria: *Bifidobacterium*; Firmicutes: *Clostridium coccoides*, *Clostridium leptum*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia* y *Ruminococcus gnavus*; Verrucomicrobia: *Akkermansia muciniphila*. Se determinó la amplificación relativa de estas bacterias en heces provenientes de 21 adultos con obesidad (IMC ≥ 30 kg/m²) y 26 sin obesidad (IMC < 25 kg/m²). Los géneros bacterianos que predominaron en el grupo con obesidad fueron *Bacteroides/Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii* y *Roseburia*, mientras que en el grupo sin obesidad predominó *Bifidobacterium*. Los géneros *Bacteroides/Prevotella* y *Bifidobacterium* se asociaron con el consumo de carbohidratos, grasa y proteína, mientras que *Ruminococcus gnavus* se relacionó con el consumo de fibra dietaria. Se encontró que si existe una relación entre la abundancia de algunos géneros bacterianos de la microbiota intestinal, la presencia de obesidad y la dieta.

Palabras Clave: *Microbiota intestinal, dieta, obesidad, géneros bacterianos.*

ABSTRACT

Obesity is a major public health problem in the world, as its prevalence and co-morbidities are increasing. The presence of obesity is influenced by several factors such as diet, sedentary lifestyle, and genetics, and has recently been associated with the intestinal microbiota as a factor involved. The intestinal microbiota has metabolic and immune functions in the host that allows it to get additional energy from the diet, inducing inflammation processes that can contribute to weight gain. It has been reported that the ratio of Firmicutes / Bacteroidetes is impaired in people with obesity; however, results from different studies are not consistent. Bacterial genera have been identified within these phyla that are modified by diet and some of them, associated with obesity. The aim of the study was to determine the association between the presence of certain bacterial genera and obesity, carbohydrate, fat and fiber consumption. The genera Bacteroidetes included *Bacteroides/Prevotella*; Actinobacteria included *Bifidobacterium*; Firmicutes: *Clostridium coccoides*, *Clostridium leptum* and *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia* and *Ruminococcus gnavus*; Verrucomicrobia: *Akkermansia muciniphila*. The relative amplifications of these bacteria were determined in feces from 21 adults with obesity (BMI ≥ 30 kg / m²) and 26 non-obese (BMI <25 kg / m²). The main bacteria genera in the obesity group were *Bacteroides/Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii* y *Roseburia* whereas in the non-obese group was *Bifidobacterium*. *Bacteroides/Prevotella* and *Bifidobacterium* genera were associated with carbohydrates, fat and protein intakes. *Ruminococcus gnavus* was related to dietary fiber. There is a relationship between the abundance of some bacterial genera of intestinal microbiota, the presence of obesity and diet.

Keywords: *intestinal microbiota, diet, obesity, bacterial genera.*

I.- INTRODUCCIÓN

La obesidad se define como la acumulación excesiva de grasa que puede afectar la salud. Esta acumulación de grasa se debe principalmente a un desequilibrio en el balance energético del organismo, caracterizado inicialmente por un alto consumo de calorías y bajo gasto de energía o sedentarismo (Scarpellini et al., 2010; Tehrani et al., 2012).

La obesidad se ha convertido en una epidemia a nivel mundial que afecta tanto a países industrializados como en desarrollo. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en el mundo está aumentando rápidamente. En el año 2000, la Encuesta Nacional de Salud (ENSA 2000) reportó 61.8% de sobrepeso y obesidad en adultos mayores de 20 años, esta cifra aumentó a 71.3 % según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, ENSANUT 2012.

En años recientes, los estudios sobre obesidad han puesto interés en el papel que juegan las bacterias intestinales en la aparición o desarrollo de la misma. Se ha propuesto que el desarrollo de la obesidad se atribuye a la participación de la microbiota intestinal en la extracción de energía a partir de los nutrientes en el tracto intestinal, inducción de genes promotores de inflamación y genes involucrados en la regulación del apetito, como la leptina (Lozupone, et al., 2012; Sanz y De Palma, 2009; Thompson et al., 2004).

Existe una interacción compleja entre el metabolismo energético de la microbiota y el hospedero, particularmente a nivel del colon, donde se lleva a cabo la fermentación de carbohidratos complejos, síntesis de vitaminas y producción de ácidos grasos de cadena corta, que son importantes para el

buen funcionamiento del epitelio intestinal. Además, mantienen una estrecha comunicación con el sistema inmunológico, lo cual permite la coexistencia de estas comunidades bacterianas y la modulación de los mecanismos de respuesta inmune asociados (revisado por Brown et al., 2012).

Se conoce que cuando existen cambios que favorecen la proliferación de especies no nativas o el sobre crecimiento de las autóctonas pueden ocasionar un desequilibrio conocido como disbiosis. La composición de la microbiota humana es muy diversa en términos de especies y es posiblemente modificada por factores intrínsecos (genéticos, estado fisiológico e inmunológico) del hospedero y extrínsecos o del ambiente (dieta, uso de antibióticos, microbiota materna, infecciones, estrés, entre otros) (Brown et al., 2012). Zhang et al (2010), emplearon un modelo murino de obesidad inducida por dieta y encontraron cambios en la estructura de la comunidad bacteriana, los cuales se explicaron en un 57% por factores dietarios, y sólo en un 12% por cambios genéticos. Esto indica el papel dominante que tiene la dieta en la conformación del ecosistema bacteriano, y que el cambio de poblaciones clave en la microbiota puede transformar una microbiota intestinal saludable a una promotora de enfermedades.

La comunidad bacteriana se compone de más de 500 especies de los fila Proteobacteria (*E. coli*), Actinobacteria (*Bifidobacterium* spp), Firmicutes (*Lactobacillum* spp, *Clostridium* spp) y Bacteroidetes (*Bacteroides* spp, *Prevotella* spp). Estos dos últimos filos constituyen más del 90% de las especies que colonizan el tracto intestinal (Ley et al., 2008). Incluso, se han identificado tres enterotipos o consorcios de especies y dentro de éstos, algunos genes marcadores de la funcionalidad de los microorganismos en el microbioma del intestino humano, que correlacionaron con el índice de masa corporal del hospedero (Arumugam et al., 2011).

Ley et al. (2005) describieron que la proporción de Firmicutes/Bacteroidetes es alterada por la obesidad, en un modelo de ratones genéticamente obesos donde observaron una disminución del 50% de Bacteroidetes y un aumento proporcional de Firmicutes, en comparación con ratones sin obesidad (Ley et al., 2005). Este fenómeno también se ha observado en humanos, ya que después de intervenciones con dietas reducidas en energía, bajas en grasa y altas en fibra, se observó el incremento relativo en la abundancia de Bacteroidetes y la disminución en Firmicutes (Ley et al., 2006; Turnbaugh et al., 2006, Ismail et al., 2010, Jumpertz et al., 2011).

La dieta es capaz de modular la composición de la microbiota intestinal en humanos y ratones. Los hábitos dietarios de larga duración tienen un efecto importante en la composición del microbioma intestinal (Tremaroli and Backhed, 2012). En un estudio realizado en niños de una comunidad rural en África con un alto consumo de polisacáridos vegetales, se analizó la microbiota fecal, encontrándose niveles bajos de Firmicutes y niveles incrementados de Bacteroidetes, en comparación con niños italianos quienes presentaron niveles incrementados de Enterobacteriaceas y reducidos Bacteroidetes (De Filippo et al., 2010). En otro estudio se evaluó una intervención por 10 días con dietas formuladas con diferentes niveles de carbohidratos y grasa, y se obtuvo una modificación temporal de la microbiota en pacientes sanos (Wu et al., 2011). Los autores sugieren que esta modificación es prometedora y que deben realizarse intervenciones por periodos más largos para observar su impacto sobre la composición de la microbiota.

Spreadbury (2012), propuso que la alta densidad de carbohidratos simples en las dietas occidentalizadas promueve el desarrollo de una microbiota inflamatoria y que puede ser la causa primaria de la resistencia a leptina y obesidad. Precisamente, en poblaciones mexicanas se ha encontrado que los

factores de riesgo con mayor asociación con la obesidad son la modificación en los patrones de alimentación, caracterizada por el aumento en el consumo de grasas y azúcares refinados y una disminución en el consumo de fibra (Martínez-Jasso y Villezca-Becerra, 2003; Rivera et al., 2004; Roberts et al., 2003; Valenzuela, 2010). Se desconoce si en nuestra población los componentes dietarios se asocian con la presencia de algunos géneros bacterianos, y éstos con la presencia de obesidad en adultos.

En el presente estudio estamos interesados en encontrar si existe una asociación de algunos géneros bacterianos representativos de la MI, con componentes dietarios y la presencia de obesidad.

II.- ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION

II.1. Microbiota Intestinal

El término microbiota intestinal se refiere al conjunto de comunidades microbianas que coloniza el intestino. Comprende cerca de 100 trillones de microorganismos (Morales et al., 2010). La MI incluye cientos de bacterias nativas que se adquieren al nacer y las bacterias en tránsito que se ingieren diariamente a través de los alimentos y bebidas (Guarner y Malagelada, 2003).

Arumugam et al. (2011) realizaron el análisis de 22 metagenomas fecales de adultos de cuatro países e identificaron que en el microbioma intestinal predominan tres consorcios o enterotipos de especies bacterianas que no son específicos para un determinado país o continente (excepto *Bacteroides* que es común en japoneses) y no están correlacionados con sexo, edad o índice de masa corporal. Estos enterotipos son *Bacteroides*, *Prevotella* y *Ruminococcus*.

II.1.1 Funciones de la Microbiota Intestinal

Desde el nacimiento, el intestino humano es colonizado por bacterias estableciendo una relación descrita como comensal (un organismo se beneficia sin afectar al otro), sin embargo Backhed et al. (2005) la describieron como una relación de mutualismo en la que ambas partes se benefician.

Entre las principales funciones que se han encontrado de la MI, destacan las metabólicas, las de protección y las inmunes (Devaraj et al., 2013; Sanz et al.,

2004). Entre las funciones metabólicas de la MI de los mamíferos, está la hidrólisis de disacáridos simples y fermentación de los carbohidratos más complejos que el humano no puede degradar (Devaraj et al., 2013; El Kaoutari et al., 2013; Sanz et al., 2004). Los productos finales del metabolismo anaerobio de estos carbohidratos complejos por parte de algunas bacterias que conforman la MI, son los ácidos grasos de cadena corta, que pueden posteriormente ser absorbidos y así contribuir con la energía correspondiente (McNeil, 1984).

Con respecto a la protección al hospedero, la MI regula y estabiliza el ecosistema intestinal evitando la colonización de microorganismos que pueden causar algún daño. Debido a que existe una competencia constante por el espacio y nutrientes entre los microorganismos ya establecidos y los patógenos, es la MI la que provee un pH óptimo para impedir la colonización por bacterias patógenas (Chow et al., 2010).

En cuanto a funciones inmunes la MI mantiene una estrecha comunicación con el sistema inmunológico, esto permite la coexistencia de estas comunidades bacterianas y la modulación de los mecanismos de respuesta inmune asociados, estos mecanismos aún no son claros y los AGCC parecen tener un papel importante (revisado por Brown et al., 2012; Kasubuchi et al., 2015).

II.1.2. Composición de la MI en el Sistema Digestivo

La composición de la MI depende de las características fisiológicas y morfológicas de cada una de las partes que componen el aparato digestivo; aumenta en cantidad y diversidad a medida que se avanza por el tracto gastrointestinal (Guarner y Malagelada, 2003). Si bien es cierto que cada MI es única, siempre existirá un patrón de colonización similar entre seres humanos (Thompson et al., 2004; Arumugam et al., 2011). La comunidad bacteriana se compone de más de 500 especies de los filos Proteobacteria,

Actinobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes, siendo estos últimos dos filos el 90% de las bacterias que componen la MI (Ley et al., 2008; Tehrani et al., 2012).

En el intestino delgado, la MI es escasa en la zona proximal, encontrándose menos de 10^5 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de heces (Bibiloni et al., 2009). En el yeyuno e íleon aumenta el número de bacterias que colonizan el área llegando a 10^8 UFC/g, conformado en su mayoría por *Bifidobacterium*, género bacteriano de anaerobios facultativos y bacterias ácido lácticas. En el colon se ha determinado que existen alrededor de 10^{11} UFC/g, siendo ésta el área del intestino con mayor número de bacterias (Thompson et al., 2004; Bibiloni et al., 2009).

II.1.3. Establecimiento y Cambios de la Microbiota Intestinal Durante la Vida

El humano en su ambiente amniótico, es en la etapa que se considera casi libre de bacterias (Aagaard et al., 2014) y es hasta el momento de nacer que tiene contacto con los primeros microorganismos. En el momento del parto, el establecimiento de la MI se ve influenciado por contacto con la microbiota vaginal de la madre, mientras que en el caso del parto por cesárea, el establecimiento de la microbiota dependerá de las bacterias presentes en el ambiente del quirófano (Thompson et al., 2004; Guarner y Malagelada, 2003).

Después del nacimiento, la evolución de la microbiota depende de otros factores que pueden afectar la colonización del intestino como son el contacto de los padres con el neonato, el tiempo de hospitalización después del nacimiento y la alimentación que reciben (Guarner y Malagelada, 2003; Ottman et al., 2012). Los estudios han demostrado que dentro de la primera semana de vida ya se encuentran comunidades microbianas en el recién nacido (Aagaard et al., 2014). En los primeros meses de vida cuando la

alimentación del recién nacido se basa en leche materna, se promueve el establecimiento de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (que inhiben el establecimiento de bacterias patógenas), a diferencia de las bacterias que se promueven con el consumo de las fórmulas lácteas (Aagaard et al., 2014; Sanz et al., 2006).

Entre los 5 y 6 meses de vida, al introducir alimentos sólidos a la alimentación del infante, se promueve la colonización de otras bacterias del filo Firmicutes como *Enterococcus* y *Clostridium* junto con *Bacteroides* perteneciente al filo Bacteroidetes, lo que genera una MI madura, es decir que proporciona los efectos benéficos para el hospedero y se asemeja más a la del adulto (Thompson et al., 2004). La alimentación es un factor importante en la composición de las poblaciones bacterianas que colonizan el tracto digestivo del infante (Suárez, 2013; Ringel-Kulka et al., 2013; Sela y Mills, 2014).

A lo largo de la vida, la MI se vuelve más diversa. En la etapa adulta los cambios en la composición de la MI son debidos principalmente al estilo de vida, hábitos alimentarios, enfermedades inflamatorias, uso de antibióticos e infecciones que el individuo presenta a lo largo del tiempo (Ottman et al., 2012). Los filos bacterianos que predominan en niños y adultos sanos respectivamente son: Firmicutes 80.67% y 81.12%, Bacteroidetes 5% y 13% y Actinobacterias 12.5% y 3.4 %, que se considera un patrón normal (Ringel-Kulka et al., 2013).

II. 2.- Microbiota Intestinal y Obesidad

Como se mencionó anteriormente, el interés en el estudio de la MI en humanos ha aumentado en años recientes ya que se ha reportado que la composición y metabolismo de la microbiota juega un papel importante en el desarrollo de obesidad, por lo que se han propuesto varios mecanismos involucrados (Ridaura et al., 2013; Schwartz et al., 2010).

II. 2.1. Presencia de MI y su efecto en el desarrollo de obesidad

Los estudios que han fortalecido la hipótesis de que la presencia de microorganismos en el intestino son determinantes para el desarrollo de obesidad, se han realizado ingeniosamente implantando microbiota intestinal a ratones libres de gérmenes y observando su efecto en la composición corporal, como medida de la presencia de obesidad. Backhed et al. (2004) observaron que los ratones C57BL/6 libres de gérmenes presentaban 42% menos grasa corporal que el grupo de ratones de la misma cepa que fueron implantados con microbiota intestinal proveniente de ratones convencionalizados, que fueron alimentados con una misma dieta (57% de carbohidratos y 5% de grasa), a pesar de que el consumo de alimento fue 29% más alto en ratones libres de gérmenes.

Ridaura et al. (2013) colonizaron ratones C57BL/6J libres de gérmenes con MI de gemelos humanos, uno con obesidad y el otro sin obesidad. Los ratones que recibieron la MI del gemelo con obesidad incrementaron su adiposidad, a diferencia de los ratones que recibieron MI del gemelo sin obesidad, a pesar de haber sido alimentados con la misma dieta (alta en fibra y baja en grasa).

Estos resultados parecieran señalar que los microorganismos del intestino participan en la producción de energía a partir de los carbohidratos complejos indigeribles por el sistema digestivo humano. McNeil en 1984 reportó que el 10% de la energía total obtenida por el humano provenía del rescate de energía por las bacterias y no solo por la energía aportada por los componentes digeribles de la dieta.

II.2.2 Proporción relativa de los filos Bacteroidetes y Firmicutes y su asociación con obesidad

Numerosos estudios se han realizado buscando asociación entre la obesidad y la composición de la MI, que puedan brindar una explicación fisiológica al

padecimiento, sin embargo los resultados han sido controversiales. Se ha propuesto que la obesidad se asocia con las proporciones relativas de los principales filos de bacterias presentes en el intestino grueso (Bacteroidetes y Firmicutes).

Schwartz et al. (2009) evaluaron la MI de 98 adultos divididos en tres grupos, peso normal, sobrepeso y obesidad, reportando que la proporción de los filos predominantes fueron Firmicutes y Bacteroidetes en los tres grupos, la proporción de Bacteroidetes fue mayor en el grupo de sobrepeso (46.8%) que en el de obesidad (45%) sin embargo no encontraron diferencias significativas.

Zhu et al. (2013) caracterizaron la MI de niños y adolescentes con esteatosis hepática no alcohólica, saludables y con obesidad, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. Sin embargo, reportan un predominio del filo Bacteroidetes en el grupo con obesidad, presentando 43% de Firmicutes y 51% de Bacteroidetes. Bervoets et al. (2013) también realizaron un estudio con la finalidad de observar las diferencias de MI entre niños de 6 a 16 años con y sin obesidad, reportando la presencia de ambos filos Firmicutes y Bacteroidetes en ambos grupos con el predominio de Firmicutes en el grupo con obesidad.

Remely et al. (2015) estudiaron la MI de adultos con obesidad durante una intervención dietaria para inducir la pérdida de peso. Esta intervención duró 4 meses y los resultados se correlacionaron con la composición corporal obtenida a partir de bioimpedancia eléctrica. Se encontró que la proporción de Firmicutes y Bacteroidetes disminuyó significativamente durante la intervención, y los participantes mostraron un incremento en la abundancia de bacterias.

En contraste, Duncan et al. (2008) estudiaron los filos Firmicutes y Bacteroidetes en sujetos con obesidad y sin obesidad durante el mantenimiento del peso corporal y durante cuatro semanas consumiendo dietas bajas en carbohidratos para la pérdida de peso. No encontraron

diferencias en las proporciones relativas de Bacteroidetes en las heces de las personas con obesidad comparadas con las de las personas sin obesidad. Además, no detectaron cambios en el porcentaje de Bacteroidetes en las heces de las personas con obesidad alimentadas con las dietas para reducción de peso. Solamente detectó la reducción de Firmicutes en las heces de los sujetos que bajaron de peso. Estas observaciones sugieren que las proporciones de Bacteroidetes y Firmicutes en la microbiota fecal no tienen relación con obesidad, al menos a nivel de filos. De igual forma, los análisis de Arumugam et al. (2011) no revelaron correlación entre el índice de masa corporal y la proporción de los filos Firmicutes/Bacteroidetes y por lo tanto no apoyan la relación de esta proporción de filos con la obesidad.

II. 2. 3 Asociación de los géneros bacterianos que conforman la MI y obesidad

La variabilidad de los resultados en cuanto a la asociación de la MI con obesidad se ha relacionado con el predominio de ciertos géneros bacterianos pertenecientes a diferentes filos. Por ejemplo en el estudio de Remely et al. (2015) reportaron que la proporción de Firmicutes y Bacteroidetes disminuyó, sin embargo encontraron mayor cambio en géneros bacterianos pertenecientes al filo Firmicutes como *Clostridium cluster IV* y *Feacalibacterium prausnitzii* que incrementaron significativamente durante la intervención dietaria, en el caso de los géneros pertenecientes a Bacteroidetes no encontraron cambios significativos.

Schneeberger et al. (2015) evaluaron el efecto de *Akkermansia muciniphila* (bacteria perteneciente al filo Verrucomicrobia) en ratones (C57BL/6J) que fueron sometidos a una dieta alta en grasa (45 % de kcal provenientes de grasa). Ellos reportan una asociación negativa de la bacteria con marcadores de inflamación, síntesis de lípidos y varios marcadores plasmáticos de resistencia a la insulina, el riesgo cardiovascular y la adiposidad.

II. 3.- Mecanismos de la Asociación de la Microbiota Intestinal y Obesidad

La MI puede estar relacionada con la obesidad a través de varios mecanismos como la obtención y almacenamiento de energía a partir de la dieta, modulación de la expresión genética relacionada con la saciedad y la relación que la MI tiene con la inflamación (Backhed, 2011; Clarke et al., 2012).

II.3.1. Obtención y Almacenamiento de Energía

Algunas de las bacterias que componen la MI participan en la obtención de energía a través de actividades metabólicas que resultan en la extracción de energía de sustancias indigeribles de la dieta por el humano (Mönckeberg y Corsini, 2011; Frazier et al., 2011; Fernandes et al., 2014). Esto se debe a la presencia de bacterias que expresan enzimas como las glucósido hidrolasas, carbohidrato-esterasas, glicosil transferasas, y liasas, que actúan sobre los hidratos de carbono complejos de tal forma que se puede obtener un mayor aporte de energía a partir de sus productos de fermentación. Esta energía adicional así obtenida, se almacena en el tejido adiposo, además de ser usada para el crecimiento y proliferación microbiana (Mönckeberg y Corsini, 2011; Turnbaugh et al., 2006, Santacruz et al., 2009; Ruiz et al., 2010; Frazier et al., 2011; Devaraj et al., 2013).

Al ser digeridos los polisacáridos y oligosacáridos, se obtienen los ácidos grasos de cadena corta, principalmente acetato, propionato y butirato, como producto final de su fermentación. La fermentación de la fibra produce de 2 a 5 kcal/g; dependiendo del tipo de fibra. (Schwartz et al., 2010; Valenzuela y Maiz, 2006; García y Velasco 2007; García et al., 2002).

El butirato es metabolizado en su mayoría por el epitelio intestinal, constituyendo la principal fuente de energía. Por su parte, el acetato y propionato llegan a circulación portal y participan en el metabolismo del

colesterol y lípidos (Morales et al., 2010; Neish, 2009). El acetato sigue el camino de la gluconeogénesis y síntesis de colesterol y triglicéridos, una parte del acetato puede ser metabolizado principalmente en músculo para obtener energía. El propionato reduce la lipogénesis de novo, al inhibir la expresión génica de las enzimas hepáticas implicadas en este camino metabólico (Morales et al., 2010; Schwartz et al., 2010). También se ha visto que los AGCC tienen efectos benéficos al participar en el metabolismo energético y respuestas inflamatorias relacionadas a obesidad, sin embargo el papel de estos metabolitos aún no queda claro (Kasubuchi et al., 2015)

Backhed et al., 2004, observaron que el contenido de ácidos grasos de cadena corta en suero de ratones con obesidad era más alto, mientras que en las deposiciones era más bajo, que en ratones sin obesidad. Esto sugiere que el proceso de obtención y almacenamiento de energía en animales con obesidad es más eficiente que ratones sin obesidad. Además se observó que los ratones con MI normal, a diferencia de ratones libres de gérmenes, presentaron 42% más grasa corporal total, a pesar de haber consumido menos energía que los ratones libres de gérmenes.

II.3.2. Modulación de genes involucrados en la regulación del apetito y señalización

Además de hacer más eficiente la obtención de energía a partir de la dieta, se han propuesto otros mecanismos que tratan de explicar la asociación de la MI con la obesidad.

Los ácidos grasos de cadena corta, son el resultado de la fermentación de carbohidratos complejos que el humano no puede degradar, algunas funciones son: fuente de energía en las células epiteliales del intestino y también actúan como moléculas de señalización que estimulan efectos anti-inflamatorios y regulan la expresión de hormonas como la leptina que se encarga de la

regulación del apetito y el metabolismo de energía en los adipocitos (Bellahcene et al., 2013; Cruz et al., 2014). La MI de ratones genéticamente obesos deficientes de leptina incluye bacterias que descomponen polisacáridos no digeribles, pues al transferir la MI de estos ratones a ratones libres de gérmenes se observó una mayor acumulación de grasa en comparación con los ratones que recibieron MI de ratones delgados. Backhed et al., (2004) encontraron que los ratones con MI presentaban niveles bajos de expresión del factor de ayuno inducido por adipocitos (Fiaf por sus siglas en inglés, también llamada angiopoyetina-4), el cual es un inhibidor de la enzima lipoproteinlipasa (LPL), por consiguiente observaron una mayor actividad de LPL y mayor adiposidad. Por el contrario, los ratones libres de gérmenes presentaron niveles altos de Fiaf y con esto demostraron que en parte esto contribuyó a la adiposidad reducida (Backhed et al. 2004; Backhed, 2011; Cruz et al., 2014; Bibiloni et al. 2009).

Otro mecanismo que pretende explicar la asociación de la MI con la obesidad involucra a la proteína quinasa AMP (AMPK). Esta proteína es regulada por las hormonas leptina y adiponectina, falta de oxígeno, ejercicio y por bajos niveles de glucosa. La presencia de algún metabolito proveniente de la MI suprime la actividad de AMPK y favorece la acumulación de ácidos grasos de cadena larga en las células del colón, hígado y tejido adiposo (Backhed 2011; Cruz et al., 2014; Bibiloni et al. 2009). En ratones (C57BL/6J) libres de gérmenes se observó una elevada actividad de AMPK en hígado y músculo esquelético, aumento en el tiempo de vida y resistencia al desarrollo de obesidad, características similares a las observadas durante la restricción calórica (Backhed 2007).

Bibiloni et al. (2009) Mencionan que muy probablemente la activación de AMPK y los niveles elevados del Fiaf sean dos mecanismos independientes que induzcan la oxidación de las grasas y la protección de los ratones libres de gérmenes frente a la obesidad inducida por la alimentación, también mencionan que estos experimentos prueban las complicadas relaciones que

existen entre la microbiota intestinal y la intervención sobre el peso del hospedador.

II.3.3. Microbiota intestinal e inflamación

Hace más de tres décadas que la obesidad se asoció con una respuesta inmune deficiente (Chandra, 1981; Chandra and Kutty, 1980). A la fecha, hay suficiente evidencia de que la adiposidad interfiere con la función inmune, y que la obesidad es un estado de inflamación crónica leve. Después de los primeros hallazgos moleculares que relacionaban inflamación con obesidad (revisado por Wellen and Hotamisligil, 2005), se han publicado varios estudios que apoyan la relación entre obesidad, inflamación y sus comorbilidades (Ghanim et al., 2004; Curti et al., 2011). En el estudio de Terán-Cabanillas et al. (2013) evaluaron la expresión del factor supresor de la señalización de citocinas 3 (SOCS-3) y la respuesta inmune. Se encontró que las personas con obesidad (índice de masa corporal, IMC ≥ 30 kg/m²) tuvieron respuestas deficientes en la producción de IFN- α e IFN- β y elevados niveles de expresión de SOCS-3 mRNA, al ser comparadas con personas sin obesidad (IMC ≤ 25 kg/m²) (Teran-Cabanillas et al., 2013). Además, se encontró que los niveles de expresión de SOCS-3 mRNA, y niveles séricos de leptina tuvieron una mejor correlación con el índice cintura/cadera que con el IMC o % grasa corporal total, sugiriendo que la acumulación de grasa abdominal pudiera estar más relacionada con el estado de inflamación y la señalización defectuosa de leptina (Moya-Camarena, comunicación personal). Se considera a la leptina como el más importante regulador del equilibrio energético por su función en la regulación de la saciedad (revisado en Lubis et al., 2008).

La resistencia a la leptina o hiperleptinemia que se presenta en personas con obesidad sugiere la utilización inadecuada de esta proteína. Se han identificado algunas causas de la resistencia a la leptina, tales como mutaciones y polimorfismos en sus receptores, desproporción entre la leptina

sérica y proteína acarreadora de leptina e inhibición de la señalización de leptina por el aumento en la expresión de SOCS-3 (Bjorbaek et al., 1999). Como su nombre lo indica, este supresor de la señalización de citocinas SOCS-3 es una proteína que inhibe la señalización de varias citocinas en el organismo, incluyendo la leptina. Estudios en ratones con expresión deficiente de SOCS-3 en el hipotálamo mediobasal y alimentados con dieta estándar, redujeron su ingestión de alimentos, limitando la adiposidad y el aumento de peso corporal. Se observó que estos ratones mostraron una mayor sensibilidad a las señales de saciedad relacionadas con las comidas y mediada por la señalización de oxitocina. A su vez, la oxitocina regula el efecto de la leptina hipotalámica sobre la saciedad. Los autores sugieren que cualquier disfunción en este camino de señalización puede llevar al aumento en el consumo de alimentos y la obesidad (Matarazzo et al., 2012).

Existe una interacción compleja entre el metabolismo energético de la microbiota y el hospedero, particularmente a nivel del colon, donde se lleva a cabo la fermentación de carbohidratos complejos, síntesis de vitaminas, y producción de ácidos grasos de cadena corta que son importantes para el buen funcionamiento del epitelio intestinal. Además, mantienen una estrecha comunicación con el sistema inmunológico, lo cual permite la coexistencia de estas comunidades bacterianas y la modulación de los mecanismos de respuesta inmune asociados (revisado por Brown et al., 2012). *Bacteroides thetaiotamicron* y *Enterococcus faecalis* son especies que modulan la actividad del factor de transcripción PPAR γ , clave en el metabolismo de lípidos y en inflamación, y con ello regulan respuestas inflamatorias a nivel intestinal (Kelly et al., 2004; Are et al., 2008). La presencia de la mutación Pro12Ala en PPAR γ se ha asociado con obesidad y adiposidad central en diferentes poblaciones, incluyendo una población sonorensis (Cole et al., 2000; Franks et al., 2007; Aguayo-Armendáriz, 2016)

Spreadbury en 2012 propuso que la alta densidad de carbohidratos simples en las dietas occidentalizadas promueve el desarrollo de una “microbiota

inflamatoria” y que puede ser la causa primaria de resistencia a la leptina y obesidad.

Por otra parte, Cani et al. (2008) encontraron que administrar una dieta alta en grasa a ratones, alteraba la MI favoreciendo la producción de lipopolisacárido (LPS) por el predominio de bacterias Gram-negativas y permitiendo la traslocación del LPS de la luz del intestino a circulación sanguínea, ya que se generaba un incremento de 2-3 veces las concentraciones plasmáticas de LPS (endotoxemia).

Los LPS de las bacterias gram-negativas pueden activar al receptor tipo toll 4 (TLR4) e inducir la producción de citocinas y quimiocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IL-6 e IL-1 β) asociadas al aumento de adiposidad. Los niveles séricos elevados de LPS pueden ser un factor inflamatorio que se ha asociado al aumento de peso (Sanz y De Palma, 2009) por su participación en la inducción del factor supresor de la señalización de citocinas, SOCS-3 (Qin et al., 2007), que inhibe a su vez la señalización de leptina (Bjorbaek et a., 1999).

Estos resultados sugieren que la modulación de la MI en la obesidad puede mejorar la señalización de la insulina y la tolerancia a la glucosa mediante la reducción de los niveles circulantes de LPS y la señalización inflamatoria. La modulación también parece aumentar los niveles de acetato en circulación, que activa AMPK y, finalmente, conduce a la reducción de infiltración de macrófagos. Se ha postulado que cualquier tratamiento que prevenga la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo en obesidad, beneficiará la respuesta inflamatoria y el estado metabólico anormal (Carvalho et al., 2012; Bastarrachea et al., 2007).

II.4.- Dieta y Modulación de la Microbiota Intestinal

Algunos estudios sugieren que los cambios en el tipo de alimentos que ingiere el hospedero puede generar cambios en la composición de las bacterias intestinales (David et al., 2014; Korpela et al., 2014). Tremaroli y Backhed (2012) proponen que los hábitos dietarios de larga duración tienen un efecto importante en la composición del microbioma intestinal.

En el estudio realizado en niños de una comunidad rural en África cuya dieta se caracterizó con un alto consumo de polisacáridos vegetales, se encontraron niveles bajos de Firmicutes y altos de Bacteroidetes. Mientras que en los niños italianos del mismo estudio, presentaron niveles altos de Enterobacteriaceas y bajos de Bacteroidetes (De Filippo et al., 2010). En otro estudio reciente se evaluó una intervención por 10 días con dietas formuladas con diferentes niveles de carbohidratos y grasa, y se obtuvo una modificación temporal de la microbiota en pacientes sanos (Wu et al., 2011). Los autores sugieren que esta modificación es prometedora y que deben realizarse intervenciones por periodos más largos para observar su impacto sobre la composición de la microbiota.

En un estudio realizado por Zhang et al. (2010), donde utilizaron ratones (C57BL/6J), indujeron obesidad mediante la dieta y encontraron cambios en la composición bacteriana, los cuales se explicaron en un 57% por factores dietarios, y sólo en un 12% por mutaciones genéticas. En este estudio se puede ver el papel de la dieta en la conformación de la MI.

Los estudios en ratones han reportado que el cambio de macronutrientes en la dieta puede alterar el microbioma intestinal en solo un día pero estabilizarse en una semana; estos cambios se observaron en modificaciones de dietas altas en polisacáridos y bajas en grasa a dieta alta en grasa y azúcares simples. Sin embargo estudios dietarios en humanos no han encontrado el mismo efecto (Turnbaugh et al., 2009; Lawrence et al., 2014). Wu et al., (2011)

reportaron en un estudio en humanos que solo las dietas a largo plazo se correlacionaron con la composición bacteriana de la MI. Hasta el momento no está claro con qué rapidez el intestino responde a cambios en la dieta (Lawrence et al., 2014).

II.4.1. Componentes dietarios asociados con enterotipos o filos bacterianos

Wu et al., 2011 reportaron una asociación entre los enterotipos identificados por Arumugam et al. (2011) y la dieta. El enterotipo *Bacteroides* se encontró altamente asociado al consumo de proteína animal en la dieta, una variedad de aminoácidos y grasa saturada. Wu et al. 2011, sugieren que el consumo de carne en dietas occidentales puede promover este enterotipo. Por otra parte el enterotipo *Prevotella* se asoció con un alto consumo de carbohidratos y azúcares simples.

Además de los enterotipos, Wu et al. (2011) también analizaron los filos bacterianos con respecto a la dieta en adultos, encontrando una asociación positiva entre los filos Bacteroidetes y Actinobacterias y la grasa dietaria, y una asociación negativa con el consumo de fibra. Por otro lado, la presencia de los filos Firmicutes y Proteobacterias se asociaron negativamente con la grasa dietaria y positivamente con el consumo de fibra.

Por otra parte, en el estudio realizado por De Filippo et al., (2010) en niños africanos y europeos se encontró que la dieta de los participantes africanos resultó baja en grasa (18-31 g/d) y proteína animal (30-40 g/d) y rica en almidón y polisacáridos proveniente de plantas (102-148 g/d), en este tipo de dieta predominaron los filos Actinobacterias y Bacteroidetes. En cuanto a la dieta de los niños europeos, se encontró que era rica en proteína animal (41-66 g/d), azúcar (190-290 g/d), almidón y grasa (56.1-73 g/d); y baja en fibra (5.6- 8.4 g/d) y los filos predominantes fueron Firmicutes y Proteobacterias.

Desafortunadamente, en este estudio no se analizó la presencia de filos bacterianos con la ocurrencia de obesidad.

II.4.2. Componentes dietarios asociados con el predominio de géneros bacterianos específicos

Los métodos de secuenciación modernos y la capacidad de analizar un gran número de secuencias, han permitido la construcción de los árboles filogenéticos bacterianos. En la actualidad el dominio Bacteria se ha dividido en 13 grandes filos donde se agrupan los géneros bacterianos. Dentro de cada filo pueden agruparse géneros bacterianos con diferentes características y funciones. Por ejemplo al filo Firmicutes pertenecen las bacterias *Clostridium*, y *Lactobacillus* las cuales son conocidas por ser patógenas las primeras y con efectos benéficos para el humano las segundas. El predominio de unos de los filos puede deberse a la presencia en mayor proporción de cualquiera de los géneros que la forman. Así pues, cuando se asocia la dieta o la obesidad con un determinado filo, no se sabe exactamente cuál de los géneros bacterianos que lo conforman es el responsable de esta asociación. Esto pudiera ser una de las razones por las que se encuentran resultados contradictorios (Arumugam et al., 2011; Korpela et al., 2014).

Recientemente se han reportado géneros bacterianos específicos que predominan o son modificados por componentes de la dieta, tales como: *Bacteroides* y *Prevotella* (pertenecientes al filo Bacteroidetes), *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Roseburia* y *Faecalibacterium prausnitzii* (Firmicutes), *Bifidobacterium* (Actinobacterias) y *Akkermansia muciniphila* (Verrucomicrobia) (Arumugam et al., 2011).

Los géneros bacterianos como *Lactobacillus*, *Clostridium* y *Ruminococcus* pertenecientes al filo Firmicutes se han asociado con una mayor eficiencia en la utilización de energía, por ejemplo, *Lactobacillus* está asociado a la

degradación de fibra (Arumugam et al., 2011; Brown et al., 2012). El género *Clostridium* se ha encontrado elevado en dietas altas en grasa y *Ruminococcus* se ha asociado a una mayor absorción de carbohidratos. En un estudio realizado por Petriz et al. (2014) en ratas Wistar con obesidad se encontró mayor abundancia del género *Ruminococcus gnavus*. Si bien los estudios citados evalúan la relación de los géneros bacterianos con componentes de la dieta, puede decirse que estos componentes son también obesogénicos.

Se ha observado que dentro del filo Bacteroidetes, el género *Bacteroides* predomina en dietas altas en proteína animal y grasa saturada; *Prevotella* por lo contrario predomina en dietas altas en fibra. *Bifidobacterium* perteneciente al filo Actinobacterias es el género al que más se le ha atribuido beneficios para el humano, esta bacteria se encuentra disminuida en dietas altas en grasa y predomina en dietas altas en fibra, el predominio de esta bacteria evita la proliferación de bacteria patógenas (Escudero y González 2006; Turnbaugh et al., 2009; Schneeberger et al., 2015).

Al igual que *Bifidobacterium*, se ha visto que *Akkermansia muciniphila* disminuye en dietas altas en grasa según reportan Schneeberger et al. (2015), quienes administraron una dieta alta en grasa a ratones durante 12-16 semanas, y este género disminuyó. Este estudio sugiere que *Akkermansia muciniphila* protege de la ganancia de peso y desarrollo de adiposidad al mitigar el efecto de la dieta en la barrera intestinal y la ganancia de peso. También reportan que con dietas altas en grasa (45%) el género *Roseburia*, aumentó. En contraste, Neyrinck et al. (2012), encontraron que con dietas al 35% de grasa este género disminuía.

Faecalibacterium prausnitzii es un género bacteriano que ha sido propuesto como probiótico para el tratamiento de la inflamación intestinal, ya que esta bacteria estimula la expresión de IL-10, una interleucina antiinflamatoria. Además disminuye IL-8 y la activación de NF-kB (Heinken et al., 2014). Sin

embargo, Balamurugam et al. (2010) reportaron que *Faecalibacterium prausnitzii* se encontraba elevado en niños con obesidad, lo que podría indicar conduce a una mayor recuperación de energía a partir de hidratos de carbono no absorbidos.

A pesar del gran número de estudios que se han desarrollado, aún sigue la controversia sobre el papel de la MI en la obesidad, las diferencias entre filos principalmente en filo B/F aún no queda dilucidado. El estudio en particular de los géneros bacterianos tal vez pueda brindar una respuesta más clara a esta controversia (DiBaise et al., 2012). Como se puede ver aún falta trabajo por realizar para poder determinar el papel de la MI y la posible relación con la dieta y la obesidad.

III.- HIPOTESIS

Existe una relación entre los géneros bacterianos (*Bacteroides*, *Prevotella*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia* y *Akkermansia muciniphila*) que conforman la microbiota intestinal, con los componentes de la dieta como fibra, proteína, carbohidratos y grasas y la presencia de obesidad en adultos.

IV.- OBJETIVOS

IV.1. General

Caracterizar la microbiota intestinal de adultos con y sin obesidad para determinar las proporciones en que se encuentran los géneros bacterianos (*Bacteroides*, *Prevotella*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia* y *Akkermansia muciniphila*) y buscar si existe asociación de éstos con los componentes de la dieta y la presencia de obesidad en adultos.

IV.2. Objetivos Particulares

Determinar la composición de la microbiota de adultos con y sin obesidad analizando presencia o ausencia de géneros bacterianos presentes en muestras de heces.

Analizar la dieta de los participantes, principalmente consumo de carbohidratos, proteína, grasas y fibra.

Evaluar la asociación de los géneros bacterianos predominantes en la microbiota intestinal, con los componentes de la dieta principalmente fibra, carbohidratos, proteína y grasas, y con la presencia de obesidad.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

V.1. Diseño y sujetos de estudio

El diseño del estudio fue de tipo transversal, y se incluyeron hombres y mujeres de 18-50 años, los cuales fueron reclutados por invitación abierta en sus centros de trabajo o estudio. Los criterios de exclusión fueron el consumo de antibióticos en los últimos tres meses y la presencia de enfermedades metabólicas. El tamaño de muestra calculado fue de 60 sujetos, divididos en dos grupos, 30 sujetos con obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$) y 30 sujetos sin obesidad ($IMC < 25 \text{ kg/m}^2$). El tamaño de muestra se calculó con la fórmula de comparación de medias para muestras independientes, utilizando los datos de presencia/ausencia para el género bacteriano *Lactobacillus* del estudio de Bervoets et al. 2013, con un alfa de 0.05 y un poder del estudio del 80%.

A todos los participantes se les explicaron los procedimientos y confirmaron su intención de participar mediante la firma de la carta de consentimiento informado. Los protocolos de estudio fueron aprobados por el Comité de Ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (Oficio CE/010/2014).

V.2. Evaluación antropométrica y de composición corporal

V.2.1. Peso corporal

La medición del peso se llevó a cabo con una balanza electrónica (AND FG-150K. A&D Co. Ltd.) con capacidad de $150 \pm 0.5 \text{ kg}$. Se instruyó a los participantes para colocarse de pie mirando al frente, sin moverse sobre la

balanza, descalzos y con la menor cantidad de ropa posible (Jellife y Jellife, 1989).

V.2.2. Talla

Para medir la talla se utilizó un estadiómetro portátil (Estadiómetro móvil Seca 213, Alemania) con un alcance de 205 cm ± 1 mm. Se le pidió al participante que se colocara de pie, descalzo en posición de firmes, con las puntas de los pies separados y los talones juntos tocando el estadiómetro (formando una “V”). Además se les pidió que la cabeza y glúteos tocaran el estadiómetro, la cabeza se colocó en posición del plano de Frankfort. Se le pidió que tomara aire y al momento de la exhalación se tomó la medición (Jellife y Jellife, 1989).

V.2.3. Índice de Masa Corporal (IMC)

Con los datos obtenidos de talla y peso, se realizó el cálculo para determinar el índice de masa corporal utilizando la ecuación

$$\text{IMC} = \text{Peso corporal (kg)} / \text{talla (m)}^2$$

Después se clasificó a los participantes según el IMC utilizando los puntos de corte de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2008).

V.2.4. Circunferencia de cintura y cadera

Para medir circunferencia de cintura y cadera se utilizó una cinta métrica de fibra de vidrio retráctil con tensiómetro de una longitud de 150 cm (Gulick). Se les pidió a los participantes que se colocaran de pie con los pies juntos y los brazos cruzados en el pecho, para la circunferencia de cintura se les pidió que descubrieran el abdomen y se tomó la medición a la altura de la cicatriz

umbilical después de realizar una inhalación y exhalación profunda, en el caso de la cadera se tomó la medición en el punto más ancho de la cadera. Con estas mediciones se determinó el índice cintura-cadera (ICC) y los criterios de clasificación de la OMS (2008).

V.2.5. Composición corporal

Para determinar la masa grasa y masa libre de grasa en los participantes se utilizó un equipo de bioimpedancia eléctrica Impedimed IMP5™ (Pty Ltd. Australia), a una sola frecuencia de 50 kHz y exactitud electrónica de $\pm 0.5\%$. Se colocó a los participantes en posición supina (brazos a los lados con las palmas hacia abajo y piernas separadas). Para la toma de medición se limpiaron con etanol al 70 %, la superficie de la piel en mano y pie derecho, se colocaron cuatro electrodos, dos en la mano y dos en el pie (Lukasaki et al. 1985). Para el cálculo del porcentaje de masa grasa, se emplearon los valores de resistencia y reactancia en la fórmula para población adulta mexicana propuesta por Macías et al. (2007).

V.3. Evaluación de actividad física

Se llevó a cabo mediante diarios de actividad física donde los participantes registraban todas las actividades realizadas durante 3 días (dos días de semana normal y un día de fin de semana), usando el método de registro de 3 días (Haggarty et al., 1997). El diario consistía en registrar cada 15 minutos la actividad realizada hasta tener 1 día (24 horas). Una vez terminado el diario se clasificó dentro del rango de categorías de múltiplos de metabolismo basal (mMB) FAO/WHO/UNU, 2001).

V.4. Análisis Dietario

Para evaluar la composición de la dieta se adaptó el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos semi-cuantitativo (Quizán 2000 modificado por Guillot, 2012) para determinar el consumo de grasas, carbohidratos y fibra. Se aplicó en una o dos sesiones de 1 h mediante entrevista. El cuestionario se dividió en 14 secciones, y cuenta con 265 reactivos (Tabla 1, anexo 1). Se utilizó el paquete NutriKit® el cual consiste en la impresión en cartón de alimentos en tamaño real para apoyo visual y poder determinar con mayor precisión el tamaño de porciones (chico, mediano, grande). La información documentada en estos cuestionarios se analizó en el programa *ESHA Food Processor II* versión 10.3, 2008, que incluye tablas de composición de alimentos regionales elaboradas en el Laboratorio de Alimentos del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (Grijalva et al., 1995).

Tabla 1. Grupos de alimentos evaluados en cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos

Grupos de alimentos
Aceites
Cremas
Leche
Quesos
Alimentos para Desayuno
Platillos Preparados
Frituras y Botanas
Panadería
Galletas
Cereales para el Desayuno
Pastas
Azúcares y Edulcorantes
Refrescos
Frutas
Verduras

V.5. Colección de muestra de heces

Cada voluntario proporcionó una muestra de heces en un recipiente estéril de plástico. La muestra se entregó el día en que se aplicó el protocolo de estudio, y se aseguró que fuera la más reciente. Las muestras fueron etiquetadas y refrigeradas para el transporte al laboratorio y extracción inmediata de ADN genómico.

V.6. Protocolo de extracción de ADN genómico

Las muestras de heces se procesaron para extraer ADN mediante un kit comercial, QIAmp Fast DNA Stool Minikit de QIAGEN (cat. # 51604 QIAGEN), la extracción de ADN se realizó siguiendo el protocolo establecido por el fabricante. Se pesaron de 180-220 mg de heces en un tubo de microcentrífuga de 2 ml y se añadió 1 mL de Buffer Inhibitex (incluido en el kit) a cada muestra de materia fecal, se agitó en vórtice por 1 min o hasta que la muestra fecal formara una suspensión homogénea. Se calentó la suspensión a 70°C por 5 min y se agitó por vórtice durante 15 s, después se centrifugó a 14,000 rpm (Eppendorf, Centrifuge 5415 C, Westbury, N.Y) durante un minuto para sedimentar las partículas de heces y se conservó el sobrenadante. En un nuevo tubo de microcentrífuga de 1.5 mL se agregaron 15 µL de proteinasa K (incluido en el kit), se adicionaron 200 µL del sobrenadante y 200 µL de buffer AL (incluido en el kit) y se agitó durante 15 s para después incubar a 70 °C durante 10 min. Posteriormente, se añadieron 200 µL de etanol (96-100%) al lisado y se mezcló mediante agitación.

En una columna de centrifugación del kit QIAmp se agregó 600 µL de lisado y se centrifugó a 14000 rpm por un min, descartando el filtrado. Se añadieron 500 µL de buffer AW1 (incluido en el kit) a la columna y se centrifugó a 14,000 rpm durante 1 min, descartando el filtrado. Se agregaron 500 µL de buffer AW2 (incluido en el kit) y se centrifugó la columna durante 3 min para eliminar cualquier resto del buffer. Por último se eluyó el ADN retenido en la columna mediante la adición de 200 µL de buffer ATE directamente sobre la membrana QIAamp. Se incubó durante 1 min a temperatura ambiente y se centrifugó a 14,000 rpm durante 1 min para eluir el ADN.

V.7. Cuantificación de ADN

El ADN obtenido se cuantificó por espectrofotometría mediante la medición de la absorbancia a 260 nm. Las concentraciones esperadas según el kit utilizado eran de 15 a 50 ng/μL. Se determinó la pureza del ADN utilizando la proporción de absorbancias 260/280 nm, considerándose ADN de pureza adecuada en el rango de 1.80 a 2.00. Se utilizó para este fin el sistema NanoDrop™ 1000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA). Las muestras de ADN obtenidas se almacenaron a -20°C para su posterior análisis.

V.8. Determinación de géneros bacterianos de la MI selectos

Para determinar la presencia y cuantificación relativa de las bacterias de interés se emplearon secuencias de iniciadores publicados (Tabla 2). Los géneros *Procariotas*, *Bifidobacterium* y *Clostridium* se detectaron mediante el sistema TaqMAN Universal Master Mix II y para los géneros *Bacteroides*, *Prevotella*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia* y *Akkermansia muciniphila* se utilizó Brilliant II SYBR® Green PCR Master Mix Kit. Las condiciones de amplificación usadas en sonda fueron las siguientes: un ciclo a 50°C por 2 minutos y 95°C por 10 minutos seguido de 40 ciclos a 95°C por 15 segundos y 60°C por 1 minuto. El protocolo para el kit SYBR Green fue 95°C por 10 minutos, 95°C por 10 segundos, 60°C por 30 segundos, 95°C por 15 segundos, 60°C por 1 minuto y 95°C por 15 segundos. La amplificación se realizó en el termociclador StepOne™ (Applied BioSystems).

V.8.1 Abundancia relativa de los géneros bacterianos seleccionados

Para explorar si existen diferencias en la abundancia relativa de los géneros de interés presentes entre ambos grupos (sin obesidad y con obesidad), se analizaron los datos en función de la amplificación relativa. Este análisis se basa en la relación entre los niveles de expresión de un gen de interés con respecto a los niveles de

expresión de un gen de referencia, se obtienen valores de ΔCt (Ct gen interés – Ct gen de referencia). Ct es el ciclo en el que se detecta la fluorescencia acumulada por encima del nivel umbral, y es inversamente proporcional a la cantidad de templado (ADN) inicial en la muestra. Esto es, entre más abundante sea el ADN de la bacteria, menor será el número de ciclos necesarios para el inicio de la detección de la fluorescencia de la sonda o agente intercalante al ADN utilizado (Ct).

Para obtener el valor de la amplificación relativa, se emplearon los valores de Ct de la detección de gen 16S de procariontas como gen de referencia, y el valor de Ct del género específico evaluado (Livak y Schmittgen, 2001).

Los valores de amplificación relativa se obtuvieron con la siguiente ecuación:

$$2^{(-\Delta Ct)}$$

Tabla 2. Secuencias de iniciadores utilizados en qPCR para el análisis de géneros y especies representativas de la microbiota intestinal.

Género	Iniciador	Secuencia 5'-3'	Referencia
<i>Procariotas</i>	F_Bact 1369 R_Prok1492 P_TM1389F	CGGTGAATA CGT TCC CGG TAC GGC TAC CTT GTT ACG ACT T 6FAM-CTT GTA CAC ACC GCC CGT C	Furet et al., 2009
<i>Bacteroides/</i> <i>Prevotella</i>	F_Bacter 11 R_Bacter 08 P_Bac30	CCT WCG ATG GAT AGG GGT T CAC GCT ACT TGG CTG GTT CAG VIC-AAG GTC CCC CAC ATT G	Furet et al., 2009
<i>C. leptum</i>	F_Clept 09 R_Clept 08 P-Clep 01	CCT TCC GTG CCG SAG TTA GAATTA AAC CAC ATA CTC CAC TGC TT 6FAM-CAC AATAAG TAATCC ACC	Furet et al., 2009
<i>Bifidobacterium</i>	F_Bifid 09c R_Bifid 06	GTG AGTAAT GCG TGA CC TGATAG GAC GCG ACC CCA	Furet et al., 2009
<i>C. coccoides</i>	F_Ccoc 07 R_Ccoc14 P_Erec482	GAC GCC GCG TGA AGG A AGC CCC AGC CTT TCA CAT C VIC-CGG TAC CTG ACTAAG AAG	Furet et al., 2009
<i>F. prausnitzii</i>	FPR-1F FPR-2R	AGATGGCCTCGCGTCCGA CCGAAGACCTTCTTCCTCC	Halmos et al., 2015
<i>Roseburia spp.</i>	RosF RosR	TACTGCATTGGAACTGTCTG CGGCACCGAAGAGCAAT	Halmos et al., 2015
<i>A. muciniphila</i>	AM1 AM2	CAGCACGTGAAGGTGGGGAC CCTTGCGGTTGGCTTCAGAT	Halmos et al., 2015
<i>R. gnavus</i>	RgnaF Rgna R	GGA CTGCATTTGGA ACTGT CAG AACGTCAGTCATCGTCCAGAAAG	Halmos et al., 2015

Análisis Estadístico

Se realizó estadística descriptiva para evaluar las características de la población, se calcularon promedio y desviación estándar para datos normales. Para determinar diferencias entre los grupos con y sin obesidad se calcularon medianas para datos no paramétricos utilizando prueba de U Mann Whitney.

Para evaluar la asociación de los diferentes géneros bacterianos con los componentes de la dieta y la presencia o ausencia de obesidad, se utilizó regresión lineal múltiple. Se realizaron modelos separados tomando como variable dependiente los géneros bacterianos y como variables independientes los componentes dietarios y las variables de obesidad. Se utilizaron como variables de ajuste edad, sexo, consumo de energía y nivel de actividad física. El análisis de los datos se realizó en el programa STATA versión 12 y se consideró una $p \leq 0.05$ como significativa.

VI. RESULTADOS

VI.1 Características de la población

En el estudio participaron 47 sujetos (78.3 % de la muestra calculada), de los cuales 26 (17 mujeres y 9 hombres) integraron el grupo sin obesidad ($IMC \leq 25 \text{ kg/m}^2$) y 21 (16 mujeres y 5 hombres) el grupo con obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Las características antropométricas y de composición corporal, de ambos grupos se presentan en la Tabla 3. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos con respecto a la edad, peso, talla, IMC, cintura, cadera, ICC así como porcentaje de masa grasa y masa libre de grasa. La talla y el nivel de actividad física no fueron diferentes entre grupos.

Tabla 3. Características antropométricas, de composición corporal y de actividad física en la población de estudio (n=47).

Características	Sin obesidad	Con Obesidad	p
Edad (años)	26.0 ± 5.0 ¹	35.9 ± 8.7	0.00*
Peso (kg)	58.8 ± 8.7	93.7 ± 11.5	0.00*
Talla (cm)	164.2 ± 8.4	161.3 ± 8.6	0.25
IMC (kg/m ²)	21.7 ± 1.7	36.0 ± 4.6	0.00*
Cintura (cm)	77.4 ± 7.1	109.5 ± 9.3	0.00*
Cadera (cm)	95.3 ± 5.4	119 ± 8.2	0.00*
ICC	0.80 ± 0.05	0.9 ± 0.06	0.00*
MG (%)	24.5 ± 5.5	40.5 ± 7.3	0.00*
MCLG (%)	75.5 ± 5.5	59.5 ± 7.3	0.00*
NAF (mMB)	1.59 ± 0.17	1.55 ± 0.13	0.33

¹ Los valores representan la media ± desviación estándar. IMC, índice de masa corporal; ICC, índice de cintura/cadera; MG, masa grasa; MCLG, masa corporal libre de grasa; NAF, nivel de actividad física. *Las diferencias entre los grupos fue evaluada usando *t Student* ($p < 0.05$).

VI.2. Análisis de la dieta

Para el análisis de la dieta se evaluaron carbohidratos, fibra y grasas. En la Tabla 4 se presenta la comparación del consumo de los diferentes componentes dietarios entre los grupos con obesidad y sin obesidad. Se observaron diferencias significativas entre los grupos en el análisis de la fibra soluble y gramos de carbohidratos ($p < 0.05$).

Tabla 4. Comparación del consumo de componentes dietarios en la población de estudio (n=47).

Componente dietario	Sin Obesidad	Rango intercuartil (25-75)	Con Obesidad ¹	Rango intercuartil (25-75)	p
Energía (kcal)	2123.1 ²	1724.6-3154.6	3206.0	2072.3-3864.6	0.07
Proteína (g)	101.65	84.8-140.9	133.34	81.4-170.3	0.41
Carbohidratos (g)	248.49	193.1-377	393.32	227.2-470.2	0.03*
Grasa (g)	88.36	66.3-123.8	124.91	76.9-149.2	0.12
Proteína (%)	19.15	17.2-20.1	16.6	14.6-19.7	0.06
Carbohidratos (%)	45.45	42.3-49.7	47.5	45.6-52.2	0.07
Grasa (%)	35.35	33-37.5	34.1	31.4-36.5	0.42
Fibra (g)	28.54	22.9-41.2	44.28	28.1-49.6	0.05*
Fibra soluble (g)	4.91	3.44-8.7	9.88	4.7-11.5	0.04*
Fibra insoluble (g)	11.84	8.5-21.6	20.68	10.9-25.7	0.38
Azúcares (g)	95.95	74.03-140.9	137.1	88-189.1	0.14
Grasa saturada (g)	28.88	20.1-37.8	37.35	23.9-49.5	0.09
Grasa monoinsaturada (g)	28.04	24.5-40	35.21	26.5-48.2	0.17
Grasa poliinsaturada (g)	13.35	8.2-18.5	15.07	7.5-18.8	0.36
Grasa trans (g)	4.10	2.6-7.4	6.77	4.2-11.7	0.05*
Colesterol (mg)	355.28	231.9-553.1	434.55	237.7-496.4	0.91

¹Obesidad definida por el índice de masa corporal ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Las diferencias entre los grupos fue evaluada utilizando la prueba de U Mann-Whitney, $p \leq 0.05$. ² Los datos son reportados en medianas e intervalo intercuartil.

VI.3 Identificación de los géneros bacterianos representativos presentes en la microbiota intestinal

Se evaluó la presencia de géneros bacterianos representativos de cada fila. Para Bacteroidetes se incluyeron *Bacteroides/Prevotella*; Actinobacteria: *Bifidobacterium*; Firmicutes: *Clostridium coccooides*, *Clostridium leptum*, y *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia* y *Ruminococcus gnavus*; Verrucomicrobia: *Akkermansia muciniphila*. Los primeros seis géneros estuvieron presentes en el 100% de las muestras de heces de los participantes, independientemente de la presencia de obesidad. En los casos de *A. muciniphila* y *R. gnavus* se identificaron en el 63 % y 95% de los participantes respectivamente, sin observarse diferencias por la presencia de obesidad.

La abundancia relativa de los géneros *Bacteroides/Prevotella*, *Faecalibacterium prausnitzii* y *Roseburia*, fue mayor en el grupo de sujetos con obesidad ($p < 0.05$) que en el grupo de sujetos sin obesidad. En el caso de *Bifidobacterium* este género predominó en el grupo sin obesidad ($p = 0.00$) (Figura 1).

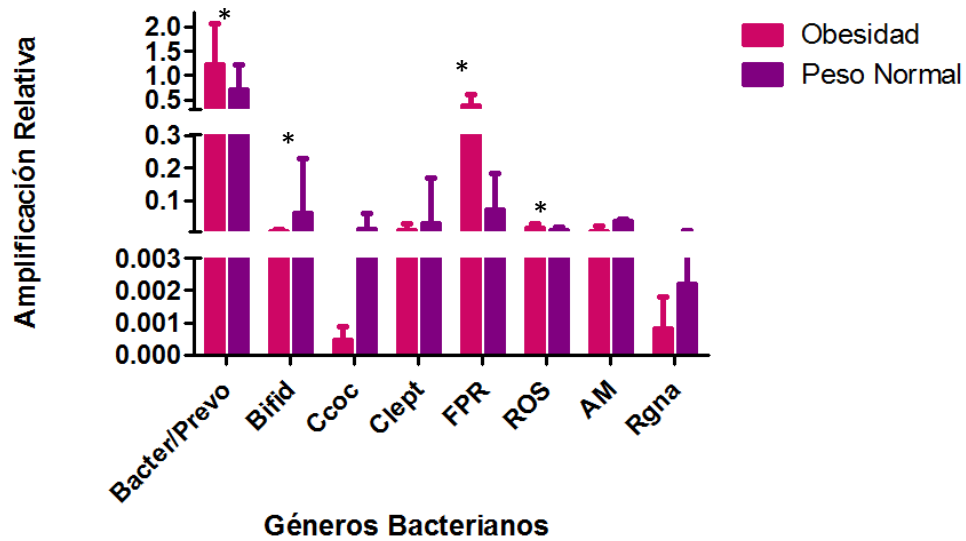


Figura 1. Abundancia de bacterias en la MI mediante amplificación relativa de los géneros bacterianos. El valor de 1 representa la población total de bacterias en las muestras analizadas. *La diferencia entre los grupos fue evaluada por U Mann Whitney ($p < 0.05$). Bacter/Prevo: *Bacteroides/Prevotella*; Bifid: *Bifidobacterium*; Ccoc: *Clostridium coccoides*; Clept: *Clostridium leptum*; FPR: *Faecalibacterium prausnitzii*; ROS: *Roseburia*, AM: *Akkermansia muciniphila*; Rgna: *Ruminococcus gnavus*.

Para obtener el valor de la amplificación relativa, se emplearon los valores de Ct de la detección de gen 16S (VP4) de procariontes como gen de referencia, y el valor de Ct del género específico evaluado.

VI.3. Asociación entre géneros bacterianos y obesidad

Se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para evaluar posibles asociaciones entre la abundancia relativa de los géneros bacterianos estudiados con las variables antropométricas y de composición corporal. Para el análisis se tomó la población total sin distinción de grupos (con y sin obesidad). Se encontraron asociaciones significativas en el modelo sin ajustar para el género *Bacteroides/Prevotella* en las variables IMC, porcentaje de masa grasa (%MG), circunferencia de cintura e ICC. Para el género *Faecalibacterium prausnitzii* la asociación fue significativa con %MG, circunferencia de cadera y porcentaje de masa corporal libre de grasa (%MCLG). Sin embargo al utilizar las variables de ajuste edad, sexo, nivel de actividad física y consumo de energía se perdió la significancia.

Se encontró asociación positiva de la abundancia relativa de *Faecalibacterium prausnitzii* con el índice de masa corporal, circunferencia de cintura y el índice de cintura/cadera ($p < 0.05$). Para el género *Akkermansia muciniphila* hubo una asociación positiva con el %MG ($p = 0.01$) y una asociación negativa con %MCLG ($p = 0.01$) (Tabla 5).

Tabla 5. Asociación de los géneros bacterianos con las variables antropométricas y de composición corporal de la población de estudio (n=47).

Bacterias	Coefficiente de regresión crudo (β)	p	Coefficiente de regresión ajustado (β)⁺	p	Coefficiente de regresión ajustado (β)[‡]	p
<i>Bacteroides/Prevotella</i>						
IMC	0.029	0.03*	0.012	0.402	0.009	0.58
% MG	0.017	0.11*	0.008	0.433	0.005	0.73
Cintura	0.014	0.01*	0.005	0.418	0.0047	0.53
ICC	4.17	0.00*	2.174	0.253	2.25	0.23
Cadera	0.013	0.1	0.003	0.7	0.0011	0.9
% MCLG	-0.017	0.11	-0.008	0.43	-0.0051	0.73
<i>Bifidobacterium</i>						
IMC	-0.002	0.22	-0.004	0.107	-0.0012	0.67
% MG	-0.002	0.28	-0.003	0.094	0.0011	0.65
Cintura	0.009	0.37	0.001	0.202	-0.0007	0.56
ICC	-0.097	0.7	-0.178	0.63	-0.23	0.47
Cadera	-0.001	0.3	-0.002	0.166	-0.0006	0.67
% MCLG	0.002	0.28	0.003	0.09	-0.0011	0.65
<i>Clostridium coccooides</i>						
IMC	-0.0004	0.53	-0.0009	0.278	-0.0005	0.59
% MG	-0.0004	0.42	-0.0007	0.267	-0.0001	0.83
Cintura	-0.00003	0.92	-0.0002	0.267	-0.00008	0.84
ICC	0.03	0.68	0.0009	0.993	-0.0068	0.95
Cadera	-0.0015	0.71	-0.0003	0.481	-0.0001	0.81
% MCLG	0.0004	0.42	0.0007	0.26	0.0001	0.83
<i>Clostridium leptum</i>						
IMC	-0.0017	0.4	-0.001	0.598	-0.0028	0.32
% MG	-0.0016	0.3	-0.001	0.493	-0.0041	0.09
Cintura	-0.0008	0.34	-0.0008	0.501	-0.0011	0.35
ICC	-0.171	0.43	-0.178	0.583	-0.164	0.61
Cadera	-0.001	0.34	-0.0009	0.507	-0.0015	0.3
% MCLG	0.0016	0.3	0.001	0.49	0.0041	0.09

Faecalibacterium prausnitzii

IMC	0.014	0.00*	0.013	0.00*	0.012	0.01*
% MG	0.007	0.01*	0.005	0.11	0.038	0.39
Cintura	0.005	0.00*	0.005	0.01*	0.004	0.02*
ICC	1.36	0.00*	1.38	0.01*	1.42	0.01*
Cadera	0.006	0.00*	0.0052	0.04*	0.004	0.11
% MCLG	-0.007	0.01*	-0.005	0.11	-0.003	0.39

Roseburia

IMC	0.0002	0.32	-0.0001	0.63	-0.00005	0.85
% MG	0.0001	0.32	0	0.91	0.0001	0.63
Cintura	0.0002	0.06	0.00006	0.66	0.00009	0.52
ICC	0.076	0.00*	0.0637	0.07	0.062	0.08
Cadera	0.0001	0.36	-0.00006	0.69	-0.00002	0.88
% MCLG	-0.0001	0.32	0.00002	0.91	-0.0013	0.63

Akkermansia muciniphila

IMC	0.0003	0.24	0.0003	0.3	0.0003	0.37
% MG	0.0004	0.01*	0.0005	0.01*	0.0007	0.01*
Cintura	0.0001	0.22	0.0001	0.27	0.0001	0.31
ICC	0.006	0.79	-0.00004	0.99	0.0011	0.97
Cadera	0.0002	0.09	0.0002	0.11	0.0002	0.14
% MCLG	-0.0004	0.01*	-0.0005	0.01*	-0.0007	0.01*

Ruminococcus gnavus

IMC	-0.00008	0.38	-0.0001	0.28	-0.00003	0.75
% MG	-0.00004	0.56	-0.00007	0.39	0.00005	0.57
Cintura	-0.00002	0.57	-0.00004	0.43	-0.00001	0.75
ICC	0.0051	0.1	0.0101	0.18	0.0089	0.5
Cadera	-0.00005	0.27	-0.00008	0.47	-0.00004	0.47
% MCLG	0.00004	0.56	0.00007	0.39	-0.00005	0.57

Análisis regresión lineal múltiple. *Ajustado por edad, nivel de actividad física y energía.

‡Ajustado por edad, nivel de actividad física, energía y sexo.

p≤0.05

VI.4. Asociación entre géneros bacterianos y componentes de la dieta

Se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para determinar posibles asociaciones entre los géneros bacterianos *Bacteroides*, *Prevotella*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia* y *Akkermansia muciniphila* y componentes de la dieta como carbohidratos, fibra y grasas. Para el análisis se tomó al total de la población sin distinción de grupos (con y sin obesidad). Para los géneros *Bacteroides/Prevotella* se encontró asociación positiva con grasa saturada en gramos, monoinsaturada en gramos y colesterol (mg) así como con los porcentajes de grasa, proteína y carbohidratos ($p < 0.05$).

El género *Bifidobacterium* se asoció negativamente al consumo en gramos de grasa total, monoinsaturada, poliinsaturada, carbohidratos, grasas, proteína, azúcares y fibra ($p \leq 0.05$). Sin embargo, al considerar el porcentaje de energía proveniente de la grasa, esta asociación resultó positiva.

Para el género *Ruminococcus gnavus* se encontró asociación negativa para las variables de fibra, fibra soluble e insoluble ($p < 0.05$). Por último para los géneros *Clostridium leptum*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila* y *Roseburia* no se encontró asociación con ningún componente de la dieta (Tabla 6).

Tabla 6. Asociación de géneros bacterianos con los componentes de la dieta en la población de estudio (n=47).

Bacterias n=47	Coefficiente de correlación crudo (β)	p	Coefficiente de correlación ajustado (β)[‡]	p
<i>Bacteroides/Prevotella</i>				
Proteína (%)	0.005	0.87	0.027	0.41
Carbohidratos (%)	0.003	0.85	-0.005	0.79
Grasa (%)	0.009	0.71	-0.007	0.78
Grasa saturada (g/día)	0.015	0.01*	0.016	0.02*
Grasa Monoinsaturada (g/día)	0.016	0.01*	0.016	0.03*
Grasa Poliinsaturada (g/día)	0.032	0.05	0.034	0.05
Grasa trans (g/día)	0.018	0.35	0.007	0.73
Colesterol (mg/día)	0.001	0.00*	0.001	0.00*
Fibra (g/día)	0.009	0.05	0.009	0.08
Fibra soluble (g/día)	0.027	0.12	0.024	0.19
Fibra insoluble (g/día)	0.011	0.20	0.009	0.34
Azúcares (g/día)	0.002	0.18	0.001	0.40
Grasa (g/día)	0.005	0.01*	0.006	0.01*
Carbohidratos (g/día)	0.001	0.02*	0.001	0.03*
Proteína (g/día)	0.004	0.00*	0.005	0.00*
<i>Bifidobacterium</i>				
Carbohidratos (%)	-0.007	0.02*	-0.008	0.01*
Grasa (%)	0.010	0.02*	0.011	0.00*
Grasa saturada (g/día)	-0.0007	0.52	-0.002	0.05
Grasa monoinsaturada (g/día)	-0.001	0.28	-0.003	0.00*
Grasa Poliinsaturada (g/día)	-0.003	0.24	-0.0075	0.01*
Fibra (g/día)	0.010	0.02	-0.002	0.04*
Azúcares (g/día)	-0.0003	0.16	-0.0008	0.00*
Grasa (g/día)	-0.0004	0.32	-0.0011	0.01*
Carbohidratos (g/día)	-0.0001	0.12	-0.0004	0.00*
Proteína (g/día)	-0.0003	0.30	-0.0008	0.01*
<i>Ruminococcus gnavus</i>				
Grasa Trans (g/día)	-0.0001	0.23	0.0002	0.06
Fibra (g/día)	-0.00004	0.23	-0.00009	0.01*
Fibra soluble (g/día)	-0.0001	0.27	-0.0002	0.02*
Fibra insoluble (g/día)	-0.00007	0.19	-0.0001	0.01*

Análisis de regresión lineal múltiple. [‡]Ajustado por: Edad, Nivel de actividad física y sexo.

* p \leq 0.05.

VII. DISCUSIÓN

En el presente estudio se logró la participación de 47 voluntarios, que corresponden al 78.3 % de la muestra calculada. Los principales motivos de exclusión fueron el consumo de antibióticos en los últimos tres meses, la falta de disposición a proporcionar la muestra de heces requerida y la presencia de sobrepeso.

Como se muestra en la Tabla 3, las variables antropométricas y de composición corporal fueron diferentes entre los grupos con obesidad y sin obesidad ($p \leq 0.05$). El nivel de actividad física fue similar en ambos grupos ($p = 0.33$) quedando clasificados como actividad física sedentaria (1.59 ± 0.17 mMB en sujetos sin obesidad y 1.55 ± 0.13 mMB en el grupo con obesidad) debido a que la mayoría de los participantes tienen trabajo de oficina y muy pocos refirieron realizar actividad física en su tiempo libre. Lo anterior sugiere la presencia de obesidad en nuestros sujetos de estudio no se debe totalmente al nivel de actividad física o diferencia en gasto energético por actividad. Sin embargo, la edad puede estar jugando un papel importante, ya que las personas sin obesidad son en promedio 10 años menores que las personas con obesidad.

De acuerdo con los resultados del análisis de la dieta, se observó que el consumo de energía fue mayor (1,083 kcal/día) en el grupo con obesidad; sin embargo esta diferencia no alcanzó significancia estadística ($p < 0.07$), muy probablemente debido al tamaño de muestra. Es importante mencionar que ambos grupos tuvieron dietas hipercalóricas (2123 kcal en el grupo sin obesidad y 3206 en el grupo con obesidad), según las recomendaciones de la OMS. No se encontraron diferencias en la distribución de la energía proveniente de carbohidratos entre los grupos estudiados (45%, obesidad vs. 47 %, sin obesidad), proteína (19%,

obesidad vs. 16%, sin obesidad) grasa (35%, obesidad vs. 34% sin obesidad). Sin embargo, el porcentaje de energía proveniente de grasa resultó por encima de las recomendaciones diarias de alimentos (RDA para población mexicana) para ambos grupos (2100 kcal para mujeres y 2500 en el caso de hombres) (Borges et al. 2008). En el grupo sin obesidad se encontró que el 12.2% de la energía proviene de grasas saturadas, siendo mayor a lo recomendado (10%).

El consumo de fibra resultó por debajo de la recomendación para el grupo sin obesidad (28.5 g/d), mientras que para el grupo con obesidad (44.2 g/d) estuvo sobre la recomendación de 18-24 g según los RDA (Borges et al. 2008). En el caso de las grasas *trans* ambos grupos rebasaron las recomendaciones (menor del 1% de la energía consumida) de la Asociación Americana del Corazón de Estados Unidos y la Organización Mundial de la Salud y fue mayor en el grupo con obesidad (1.89 %) que en el grupo sin obesidad (1.73%). En términos generales, la energía consumida, así como su distribución no fue diferente entre los grupos, por lo que la presencia de obesidad no se explica por diferencias en el consumo de energía ya que en ambos grupos resultó mayor que la recomendación.

La abundancia relativa de los géneros *Bacteroides/Prevotella* fue mayor en el grupo con obesidad ($p < 0.05$). Schwartz et al. (2010) en un estudio realizado en adultos también observaron un predominio de *Bacteroides* en personas con sobrepeso y obesidad, sin embargo *Prevotella* fue más abundante en el grupo sin obesidad. De igual forma, Ferrer et al. (2013) realizaron un análisis metagenómico y proteómico de la MI en adolescentes encontrando un predominio de *Bacteroides* en adolescentes con obesidad. En el estudio de Zhang et al. (2009) se encontró también predominio de *Bacteroides* al evaluar la MI en personas con obesidad; *Bacteroides* es un género gram negativo que puede estar relacionado a inflamación de bajo grado por la presencia de LPS en la membrana celular.

Además de la mayor abundancia de *Bacteroides/Prevotella* en el grupo con obesidad este género se asoció positivamente con componentes dietarios

también relacionados con obesidad como el consumo en gramos de grasa saturada, monoinsaturada, colesterol, grasa total, proteína y carbohidratos. Este resultado concuerda con algunos trabajos donde se observa también que *Bacteroides* es un género asociado a un mayor consumo de grasa y proteína animal y *Prevotella*, predomina en dietas altas en carbohidratos (De Filippo et al., 2010). El consumo de grasas está además asociado al aumento en la translocación de LPS del intestino a circulación, provocando endotoxemia (Cani et al., 2008).

El género *Faecalibacterium prausnitzii* también predominó en el grupo con obesidad, lo que concuerda con lo reportado por Balamurugam et al. (2010) en un estudio en niños donde también encontró un predominio de este género en el grupo con obesidad. En este género se encontró una asociación positiva con el IMC, circunferencia de cintura y el índice cintura-cadera, que concuerda con el predominio en el grupo con obesidad. Si bien *Faecalibacterium prausnitzii* es una bacteria a la que se le atribuyen efectos probióticos para el tratamiento de inflamación ya que estimula interleucinas antiinflamatorias (Schneeberger et al., 2015; Corte et al., 2011; Neyrinck et al., 2012), también está asociada a la recuperación de energía a partir de los carbohidratos no digeribles (Ramírez-Farías 2009), lo cual explica nuestros hallazgos. Por el contrario Verdám et al. (2013) evaluaron la MI intestinal para determinar una asociación con inflamación local y sistémica en adultos con y sin obesidad, reportando predominio de *Faecalibacterium prausnitzii* en el grupo sin obesidad.

Por otro lado, el género *Roseburia* también mostró mayor abundancia en el grupo con obesidad, de manera similar a lo reportado por Ferrer et al. (2013) que encontraron predominio de *Roseburia* en adolescentes con obesidad. *Roseburia* es una bacteria capaz de recuperar energía de la dieta a partir de los carbohidratos complejos no digeribles (Requena et al., 2013; Rodríguez et al., 2013). Esta observación es relevante ya que en el grupo con obesidad de nuestro estudio, el consumo de fibra rebasó la recomendación diaria y fue diferente al del grupo sin obesidad; el producto final de la fermentación de la fibra dietaria por

la MI son los AGCC, estos además de contribuir a un mayor aporte de energía tienen efectos benéficos en el metabolismo y respuesta inmune del hospedero.

La abundancia relativa del género *Bifidobacterium* resultó mayor en el grupo sin obesidad, resultado que concuerda con Schwiertz et al. (2009) que también encontraron un predominio de esta bacteria en personas sin obesidad. A este género bacteriano se le han atribuido efectos benéficos en el intestino y se ha visto que se favorece su crecimiento con el consumo de fibra y disminución de grasas en la dieta (Escudero y Gonzalez, 2006). Sin embargo, nosotros encontramos que la abundancia relativa de *Bifidobacterium* disminuía cuando el consumo de fibra era mayor. Esta observación enfatiza la importancia de las interacciones entre las bacterias que colonizan el intestino ya que podríamos especular que al estar también presentes bacterias capaces de degradar carbohidratos no digeribles como *Roseburia* al ser degradada la fibra no estará disponible para favorecer el crecimiento de *Bifidobacterium*.

Akkermansia muciniphila tuvo una asociación positiva con la masa grasa corporal, a diferencia de los resultados de Schneeberger et al. (2015) que mostraron una asociación negativa entre esta bacteria, marcadores inflamatorios y el tejido adiposo, cabe mencionar el estudio citado fue realizado en ratones y la relación pudiera ser diferente en humanos. De igual manera, Everard et al. (2013) también en ratones (C57BL/6) administraron un tratamiento de *Akkermansia muciniphila* vía oral encontrando una reducción de peso corporal y mejora de composición corporal (proporción masa grasa/masa magra) sin cambiar la dieta. Es importante considerar que *Akkermansia muciniphila* es una bacteria gram-negativa cuya membrana celular contiene LPS, componente asociado con la inhibición del proceso de saciedad y el desarrollo de la obesidad. Además, el alto consumo de grasa dietaria contribuye a la traslocación del LPS al torrente sanguíneo que permite su acción inhibitoria.

Ruminococcus es una bacteria capaz de degradar las mucinas y celulosa de la pared celular los tejidos vegetales (Arumugam et al., 2011). En el presente estudio, este género *Ruminococcus gnavus* presentó una asociación negativa

con la fibra total, soluble e insoluble y mostró una tendencia positiva con grasas *trans* ($p=0.06$). Esto concuerda con lo reportado en diferencias entre grupos ya que este género predominó en el grupo sin obesidad y el consumo de fibra fue menor en este grupo.

CONCLUSIÓN

Se encontró que si existe una relación entre la abundancia de algunos géneros bacterianos de la microbiota intestinal, la presencia de obesidad y la dieta.

En el grupo sin obesidad, predominó *Bifidobacterium*, bacteria benéfica por su efecto probiótico, y estuvo asociada con el bajo consumo de grasas totales, monoinsaturadas, poliinsaturadas, proteína, azúcares, fibra y el alto porcentaje de energía proveniente de grasa. Los géneros bacterianos que predominaron en el grupo con obesidad (*Faecalibacterium prausnitzii* y *Roseburia*), están involucrados en una mayor recuperación de energía de la dieta. Además el género *Bacteroides/Prevotella* también predominó en el grupo con obesidad y se asoció positivamente al consumo de grasa y colesterol. *Bacteroides* es una bacteria Gram negativa, productora de LPS, promotor de inflamación involucrado en el mecanismo de señalización de la saciedad. Estos resultados son congruentes con los mecanismos propuestos para explicar el papel de la MI en desarrollo de la obesidad.

El estudio de la asociación de la microbiota intestinal, la obesidad y la dieta, puede ayudar a proponer modificaciones de la dieta que disminuya las géneros bacterianos asociados con la obesidad (proinflamatorios y con la capacidad para recuperar la energía proveniente de carbohidratos complejos) y promueva el predominio de las bacterias con propiedades antiinflamatorias y que no sean capaces de obtener energía a partir de carbohidratos complejos.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Aagaard K. et al., (2014). The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Science Translational Medicine*. Vol. 6, Issue 237, pp. 237
- Aguayo-Armendáriz (2016). Polimorfismo PRO12ALA del gen PPAR γ y su asociación con obesidad en adultos de Sonora: Influencia del consumo de ácidos grasos saturados y *trans*. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora.
- Arumugam M. et al., (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), 174-180.
- Backhed F. (2011). Programming of host metabolism by the gut microbiota. *Ann Nutr Metab*, 58 Suppl 2, 44-52.
- Backhed F. et al., (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(44), 15718-15723.
- Backhed F. et al., (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 307(5717), 1915-1920.
- Backhed F. et al., (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci USA*; 104: 979–984.
- Balamurugan R. et al., (2010). Quantitative differences in intestinal *Faecalibacterium prausnitzii* in obese Indian children. *British Journal of Nutrition*, 103, 335-338.
- Bastarrachea R. et al., (2007). Macrófagos, inflamación, tejido adiposo, obesidad y resistencia a la insulina. *Gac Med Mex*; 143 (6)
- Bellahcene M. et al., (2013). Male mice that lack the G-protein-coupled receptor GPR41 have low energy expenditure and increased body fat content. *British Journal of Nutrition*, 109(10), 1755-1764.
- Bervoets L. et al., (2013). Differences in gut microbiota composition between obese and lean children: a cross-sectional study. *Gut Pathog*, 5(1), 10.

- Bibiloni R. et al., (2009). Microbiota intestinal, obesidad y diabetes. *Annales Nestlé (Ed. española)*, 67(1), 39-48.
- Bjorbaek C et al., (1999). The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptine resistance. *J Biol Chem*;274(42):30059-65.
- Bourges H., Casanueva E., Rosado J. (2008). Recomendaciones de ingestión de nutrimentos para la población Mexicana. Editorial médica panamericana. Segunda edición. México D.F. 212.
- Brown K. et al., (2012). Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients*, 4(8), 1095-1119.
- Cani P. et al., (2008). Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*, 57(6), 1470-1481.
- Carvalho B. et al., (2012). Modulation of gut microbiota by antibiotics improves insulin signalling in high-fat fed mice. *Diabetologia* 55:2823–2834.
- Clarke S. et al., (2012). The gut microbiota and its relationship to diet and obesity: new insights. *Gut Microbes*, 3(3), 186-202.
- Chandra R. (1981). Immune response in overnutrition. *Cancer Res*;41(9 Pt 2):3795-6.
- Chandra R. y Kutty K. (1980). Immunocompetence in obesity. *Acta Paediatr Scand*;69(1):25-30.
- Chassaing B. y Gewirtz A. (2014). Gut microbiota, low-grade inflammation, and metabolic syndrome. *Toxicol Pathol*, 42(1), 49-53.
- Chow J. et al., (2010). Host-bacterial symbiosis in health and disease. *Adv Immunol*, 107, 243-274.
- Cole S. et al., (2000). The Pro12Ala variant of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPAR-gamma2) is associated with measures of obesity in Mexican Americans. *Int J Obes Relat Metab Disord*;24(4):522-4.
- Corte L. et al., (2011). Efecto de la fibra dietética en al expresión cuantitativa del receptor de butirato GPR43 en colon de ratas. *Nutr Hosp.* 26 (5): 1052-1058.
- Cruz S. et al., (2014). Impacto de la obesidad en la población y su relación con la microbiota intestinal. *Rev Mex Cienc Farm* 45 (2).

- Curti M. et al. (2011). Studies of gene variants related to inflammation, oxidative stress, dyslipidemia, and obesity: implications for a nutrigenetic approach. *J Obes*;497401.
- David L. et al., (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559-563.
- De Filippo C. et al., (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(33), 14691-14696.
- Dehingia M. et al-. (2015). Gut bacterial diversity of the tribes of India and comparison with the worldwide data. *Scientific reports*.
- Devaraj S. et al., (2013). The human gut microbiome and body metabolism: implications for obesity and diabetes. *Clin Chem*, 59(4), 617-628.
- DiBaise J. et al., (2012). Impact of the Gut Microbiota on the Development of Obesity: Current Concepts. *Am J Gastroenterol Suppl*; 1:22– 27.
- Duncan S. et al., (2008). Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int J Obes (Lond)*, 32(11), 1720-1724
- El Kaoutari A. et al., (2013). Development and validation of a microarray for the investigation of the CAZymes encoded by the human gut microbiome. *PLoS One*, 8(12), e84033.
- Escudero E. y González P, (2006). La fibra dietética. *Nutr. Hosp* 21 (Supl. 2) 61-72
- Everard A. et al., (2013). Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *PNAS* May 28, vol. 110, no. 22
- FAO/OMS/ONU. 2001. Human energy requirements. Report of a joint FAO/OMS/ONU expert consultation. Rome, 17-24
- Fernandes J. et al., (2014). Adiposity, gut microbiota and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans. *Nutrition & Diabetes* 4, e121.
- Ferrer M. et al., (2013). Microbiota from the distal guts of lean and obese adolescents exhibit partial functional redundancy besides clear differences in community structure. *Environmental Microbiology* 15(1), 211–226

- Franks P. et al., (2007). The Pro12Ala variant at the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene and change in obesity-related traits in the Diabetes Prevention Program. *Diabetologia*;50(12):2451-60.
- Frazier T. et al., (2011). Gut Microbiota, Intestinal Permeability, Obesity-Induced Inflammation, and Liver Injury. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* Vol. 35, Suppl. 1.
- Furet J. et al. (2009). Comparative assessment of human and farmanimal faecal microbiota using real-time quantitative PCR. *FEMS Microbiol Ecol* 68, 351-362.
- García P. et al., (2002). Metabolismo colónico de la fibra. *Nutr. Hosp.* XVII (Sup. 2) 11-16
- García P. y Velasco C (2007). Evolución en el conocimiento de la fibra. *Nutr Hosp.* 22(Supl. 2):20-5
- Ghanim H. et al., (2004). Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state. *Circulation*;110(12):1564-71.
- Grijalva M. et al. (1995). Composición química , fibradietética y contenido de minerales en alimentos de consumo frecuentes en el noroeste de México. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 45:145.150.
- Guarner F. y Malagelada J., (2003). Gut flora in health and disease. *Lancet*, 361(9356), 512-519.
- Guillot E. (2012). Contenido de ácidos grasos trans en tejido adiposo subcutáneo y visceral como factor de riesgo cardiovascular y diabetes Mellitus. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora.
- Gutiérrez J. et al., (2012) Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública.
- Haggarty P. et al. (1997). Energy expenditure during heavy work and its interaction with body weight. *Br J Nutr*; 77:359-373
- Halmos et al., (2015). Diets that differ in their FODMAP content alter the colonic luminal microenvironment. *Gut*.64 (1):93-100.
- Heinken A. et al., (2014). Functional Metabolic Map of *Faecalibacterium prausnitzii*, a Beneficial Human Gut Microbe. *Journal of Bacteriology*, Volume 196 Number 18, p. 3289 –3302

- Hojsak I. y MocićPavić A. (2014). Supplementation of prebiotics in infant formula. *Nutrition and Dietary Supplements*, 69.
- Ismail N. et al., (2011). Frequency of Firmicutes and Bacteroidetes in gut microbiota in obese and normal weight Egyptian children and adults. *Arch Med Sci*, 7, 3: 501-507.
- Jelliffe D. y Jelliffe P. (1989). Community nutritional assessment. Oxford Medical Publications. New York pp 263.
- Jumpertz R. et al., (2011). Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr* ;94:58–65.
- Kasubuchi et al., (2015). Dietary gut microbial metabolites, short-chain fatty acids, and host metabolic regulation. *nutrients*, 7, 2839-2849.
- Kelly D. et al., (2004). Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. *Nat Immunol*;5(1):104-12.
- Korpela K. et al., (2014). Gut microbiota signatures predict host and microbiota responses to dietary interventions in obese individuals. *PLoS One*, 9(6), e90702.
- Ley R. et al., (2005). Obesity alters gut microbial ecology. *PNAS*. vol. 102, no. 31
- Ley R. et al., (2006). Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444, 1022-1023.
- Ley R. et al., (2008). Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*, 320(5883), 1647-1651.
- Litvak K. y Schmittgen T. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods* Volume 25, Issue 4, Pp 402–408
- Lozupone C. et al., (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220-230.
- Lubis A. et al., (2008). The role of SOCS-3 protein in leptin resistance and obesity. *Acta Med Indones*;40(2):89-95.
- Lukasaki H. et al. (1985). Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *AJCN*. 41:810-817

- Macías N. et al. (2007). Body fat mesurment by bioelectral impedance and air displacement plethysmography: a cross-validation study to design bioelectrical impedance equations in mexican adults. *Nutrition Journal*, 15:6-18
- Martínez-Jasso I. y Villezca-Becerra P. (2003). La alimentación en México: un estudio a partir de la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares. *Revista de Información y análisis* núm. 21
- Manco M. et al., (2010). Gut Microbiota, Lipopolysaccharides, and Innate Immunity in the Pathogenesis of Obesity and Cardiovascular Risk. *Endocrine Reviews*, 31(6):817–844
- Matarazzo V. et al., (2012). Inactivation of Socs3 in the hypothalamus enhances the hindbrain response to endogenous satiety signals via oxytocin signaling. *J Neurosci*;32(48):17097-107.
- McNeil N.(1984) The contribution of the large intestine to energy supplies in men. *AJCN*. pp. 339-342
- Mönckeberg F. y Corsini G. (2011). MICROBIOTA INTESTINAL, METABOLISMO Y BALANCE CALÓRICO. *Revista chilena de nutrición*, 38, 477-481.
- Morales P. et al., (2010). [The association of intestinal microbiota with obesity]. *Rev Med Chil*, 138(8), 1020-1027.
- Neish A. (2009). Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*, 136(1), 65-80.
- Neyrinck A. et al., (2012). Dietary modulation of clostridial cluster XIVa gut bacteria (*Roseburia* spp.) by chitin–glucan fiber improves host metabolic alterations induced by high-fat diet in mice. *Journal of Nutritional Biochemistry* 23 51–59
- OMS. 2000. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic of obesity. Report of the WHO consultation of obesity (WHO technical report series 894). Geneva.
- OMS. (2008). World Health Organization. Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO expert consultation, Geneva. 8-11.
- Ottman N. et al., (2012). The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front Cell Infect Microbiol*, 2, 104.
- Petriz et al., (2014). Exercise induction of gut microbiota modifications in obese, non-obese and hypertensive rats. *BMC Genomics*, 15:511.

- Qin H. et al., (2007). Molecular mechanism of lipopolysaccharide-induced SOCS-3 gene expression in macrophages and microglia. *J Immunol* ;179(9):5966-76.
- Quizán T. (2000). Diseño y validación de una herramienta para diagnóstico de riesgo dietario en mujeres urbanas adultas de bajo ingreso. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora, México. pp. 31-48.
- Ramírez-Farías (2009). Effect of inulin on the human gut microbiota: stimulation of *Bifidobacterium adolescentis* and *Faecalibacterium prausnitzii*. *British Journal of Nutrition*, 101, 541–550
- Remely M. et al., (2015). Gut microbiota composition correlates with changes in body fat content due to weight loss. *Beneficial Microbes*; 6(4): 431-439
- Ridaura V. et al., (2013). Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*, 341(6150), 1241214.
- Ringel-Kulka T. et al., (2013). Intestinal microbiota in healthy U.S. young children and adults--a high throughput microarray analysis. *PLoS One*, 8(5), e64315.
- Rivera J. et al., (2004) Nutrition transition in México and in other Latin American countries. *Nutrition Rev*; 62:149-157.
- Roberts B., Blinkhorn A. y Duxbury J. (2003). The power of children over adults when obtaining sweet snacks. *Int J Paed Den*; 13:76–84.
- Rodríguez J. et al. (2013) ¿Existe una relación entre la microbiota intestinal, el consumo de probióticos y la modulación del peso corporal?. *Nutr. Hosp.* vol.28, suppl.1, pp. 3-12. ISSN 0212-1611.
- Ruiz V. et al., (2010). Microbiota intestinal, sistema inmune y obesidad. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 29, 364-397.
- Santacruz A. et al., (2009). Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents. *Obesity (Silver Spring)*, 17(10), 1906-1915.
- Sanz Y. et al., (2004). Funciones metabólico-nutritivas de la microbiota intestinal y su modulación a través de la dieta: probióticos y prebióticos. *Acta Pediatr Esp*, Vol. 62, N° 11.

- Sanz Y., Collado M. y Dalmau J. (2006). Contribución de la microbiota intestinal y del género *Bifidobacterium* a los mecanismos de defensa del huésped frente a patógenos gastrointestinales. *Acta Pediatr Esp*; 64: 74-78
- Sanz Y. y De Palma G. (2009). Gut microbiota and probiotics in modulation of epithelium and gut-associated lymphoid tissue function. *Int Rev Immunol*, 28(6), 397-413.
- Scarpellini E. et al., (2010). Gut microbiota and obesity. *Intern Emerg Med*, 5 Suppl 1, S53-56.
- Schneeberger M. et al., (2015). *Akkermansia muciniphila* inversely correlates with the onset of altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice. *Scientific reports*.
- Schiwartz A. et al., (2009). Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring)*, 18(1), 190-195.
- Scott K. et al., (2015). Manipulating the gut microbiota to maintain health and treat disease. provided the original work is properly cited. *Microbial Ecology in Health & Disease* 2015, 26: 25877.
- Sela D. y Mills D. (2014). The marriage of nutrigenomics with the microbiome: the case of infant-associated bifidobacteria and milk. *Am J Clin Nutr*, 99(3), 697S-703S.
- Sokol H. et al., (2008). *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *PNAS* vol. 105, no. 43. 16731–16736
- Spreadbury I. (2012). Comparison with ancestral diets suggests dense acellular carbohydrates promote an inflammatory microbiota, and may be the primary dietary cause of leptin resistance and obesity. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 5, 175-189.
- Suárez J. (2013) Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. *Nutr Hosp* Vol. 28 Suplemento 1
- Tehrani B. et al., (2012). Obesity and its associated disease: a role for microbiota? *Neurogastroenterol Motil*, 24(4), 305-311.
- Teran-Cabanillas E. et al (2013). Decreased interferon-alpha and interferon-beta production in obesity and expression of suppressor of cytokine signaling. *Nutrition*;29(1):207-12.
- Thompson O. et al. (2004). La microbiota intestinal en el niño y la influencia de la dieta sobre su composición. *Alim Nut Salud*. Vol 11. N° 2 pp. 37-48

- Tremaroli V. y Backhed F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 489, 242–249.
- Turnbaugh P. et al., (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444(7122), 1027-1031.
- Turnbaugh P. et al., (2009). The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci Transl Med*, 1(6), 6ra14.
- Valdespino J. et al., (2000) . Encuesta Nacional de Salud 2000. Tomo I. Vivienda, población y utilización de servicios de salud. Cuernavaca, Morelos, México. Instituto Nacional de Salud Pública, 2003
- Valenzuela B. y Maiz G. (2006). EL ROL DE LA FIBRA DIETÉTICA EN LA NUTRICION ENTERAL. *Revista chilena de nutrición*, 33, 342-311.
- Verdam F. et al., (2013). Human Intestinal Microbiota Composition Is Associated with Local and Systemic Inflammation in Obesity. *Obesity* VOLUME 21 NUMBER 12, E607–E615.
- Vijay-Kumar M. et al., (2010). Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science*, 328(5975), 228-231.
- Wellen K. y Hotamisligil G. (2005). Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*;115(5):1111-9.
- Wu G. et al., (2011). Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 334(6052), 105-108.
- Zhang H. et al., (2009). Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *PNAS*, vol. 106, no. 7, 2365–2370
- Zhang C. et al., (2010). Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *The ISME Journal* 4, 232–241
- Zhu L. et al., (2013). Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*, 57(2), 601-609. doi: 10.1002/hep.26093

ANEXOS