INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA
ESCUELA DE SALUD PÚBLICA DE MÉXICO

Alteraciones metabólicas y su asociación con la ingesta de polifenoles y la abundancia relativa *de Akkermansia muciniphila* en población infantil.

Tesis para obtener el grado de Maestra en Ciencias en Epidemiología

Q.B.P. ILSE ADRIANA GUTIÉRREZ PÉREZ

GENERACIÓN 2016-2018

Directora: Dra. Ana Isabel Burguete García
Asesora: M.C. Margarita Bahena-Román

Cuernavaca, Morelos., julio 2018

ÍNDICE

Resumen 3

Citación sugerida 4

Introducción 5

Antecedentes 6

Justificación 7

Planteamiento del problema 8

Objetivos 8

Marco teórico 9

- Obesidad y alteraciones metabólicas 9
- Alteraciones metabólicas y microbiota intestinal 10
- Polifenoles y Akkermansia muciniphila 13

Metodología 17

- Diseño del estudio y población 17
- Mediciones antropométricas 17
- Determinación de pruebas bioquímicas 18
- Actividad Física 18
- Información dietética 18
- Determinación de Akkermansia Muciniphila 19
- Operacionalización de variables 22
- Análisis estadístico 22

Resultados 24

Conclusión 29

Bibliografía 30

Anexo I 38

Resumen

Introducción: A nivel mundial, México ocupa el primer lugar en obesidad infantil con un 33.2% de prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños de 5 a 11 años. Se ha evidenciado que una dieta rica en polifenoles se asocia con la modulación de la microbiota intestinal lo que podría promover el crecimiento de *Akkermansia muciniphila* y contribuir inversamente al desarrollo de alteraciones metabólicas. **Objetivo del estudio:** Analizar si la ingesta de polifenoles y la abundancia relativa de *Akkermansia muciniphila* se asocian con alteraciones metabólicas en población infantil. **Metodología:** Estudio transversal con una muestra de 1560 niños entre 6 a 12 años, residentes de la Ciudad de México. Sin diagnóstico de enfermedades infecciosas, desordenes gastrointestinales al momento de la entrevista y sin consumo de antibiótico en los últimos 6 meses previos al estudio. Todos cuentan con información acerca de la abundancia relativa de *A. muciniphila* en colon distal, dieta, actividad física, datos sociodemográficos, antecedentes patológicos personales y heredofamiliares, mediciones bioquímicas y antropométricas, así como el promedio de consumo de polifenoles diarios por individuo. La asociación de alteraciones metabólicas con el consumo de polifenoles y la abundancia relativa de A. muciniphila se evaluará mediante modelos de regresión ajustados por potenciales confusores. **Resultados esperados:** Se espera encontrar una asociación entre el consumo de polifenoles y la abundancia relativa de *A. muciniphila* con alteraciones metabólicas en niños, lo cual contribuirá al conocimiento para generar recomendaciones que permitan disminuir los problemas de salud en la población infantil.

Palabras clave: *Akkermansia muciniphila*, polifenoles, alteraciones metabólicas

Citación sugerida

Gutiérrez-Pérez IA; Margarita Bahena-Román; Ana I Burguete-García. (2018) “Alteraciones metabólicas y su asociación con la ingesta de polifenoles y la abundancia relativa *de Akkermansia muciniphila* en población infantil”. Epidemiología clínica, Cuernavaca, Morelos, México. Instituto nacional de Salud Pública.

Introducción

La obesidad es considerada uno de los problemas de salud pública más graves en todo el mundo.[1]

La prevalencia de obesidad entre lactantes, niños y adolescentes va en aumento, condicionando una mayor probabilidad de que esta población de niños obesos se convierta en obesos en la edad adulta. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que alrededor de 43 millones de niños menores de 5 años presentan obesidad, con mayor prevalencia en los países de ingresos bajos y medianos en comparación con los países de ingresos altos.[1,2]

En México, la obesidad, ha sido declarada como emergencia epidemiológica; debido a la proporción elevada de la población infantil clasificada como con sobrepeso u obesidad. En la última década, el aumento ha sido hasta 3 veces mayor.[3,4] La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2016 (ENSANUT, 2016) reportó una prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad de 33.2% en la población en edad escolar de la cual, el 17.9% corresponde a sobrepeso y el 15.3% a obesidad; observando una mayor prevalencia de obesidad en los niños (18.3%) que en las niñas (12.2%).[5]

La obesidad en población infantil se asocia a mayor probabilidad de desarrollar alteraciones metabólicas como dislipidemia, hipertensión arterial (HTA), resistencia a la insulina y diabetes tipo 2.[1]

La obesidad es un problema en el que participan múltiples factores entre ellos factores genéticos y ambientales, recientemente se ha reportado que el conjunto de microorganismos que residen en el intestino, conocidos como microbiota intestinal (MI) también tiene un papel importante en la obesidad, así como en las alteraciones metabólicas. Sin embargo, la MI está influenciada por factores ambientales y la dieta. Se ha sugerido que, dentro de los diversos compuestos de la dieta, los polifenoles pueden modificar la MI de manera positiva, específicamente una dieta rica en polifenoles incrementa la abundancia relativa de bacterias como *Akkermansia muciniphila,* por consiguiente, la ingesta de polifenoles podría contribuir a reducir las alteraciones metabólicas que acompañan al estado obeso. Sin embargo, los datos disponibles en este sentido todavía son muy escasos en humanos y en animales.

Antecedentes

Akkermansia es un género bacteriano descrito recientemente y la evidencia disponible es limitada, Ouwerkerk *et al*. sugieren que *Akkermansia* es altamente adaptable y es capaz de proliferar derivando energía de diferentes dietas.[38] [44] La evidencia en modelos animales propone que *A. muciniphila* tiene un papel causal en la mejora de la homeostasis de la glucosa, la disminución de la inflamación del tejido adiposo y el aumento de la integridad intestinal.[45,46]

Se ha planteado que el consumo de una dieta diaria de polifenoles conduce a una disminución de la proporción de *Firmicutes* a *Bacteroidetes* y un aumento significativo en la abundancia relativa de *Akkermansia muciniphila* en la microbiota.[54] Un grupo de investigación reportó que en ratones con un seguimiento de 16 semanas, hubo una correlación directa entre la abundancia de *A. muciniphila* y los niveles de casi todos los parámetros implicados en la oxidación de ácidos grasos, así como una asociación inversa con marcadores inflamatorios, síntesis de lípidos, y marcadores plasmáticos de resistencia a la insulina, riesgo cardiovascular y adiposidad[43] mediante una dieta basada en polifenoles de uva. De manera similar Anhê *et., al*. refieren que los polifenoles del vino de una mezcla de jugo de uva/arándano rico en proantocianidinas (PAC), puede aumentar directamente la abundancia de *A. muciniphila.*[42]

Se ha planteado la hipótesis de que la MI podría responder de forma similar a los diversos tipos de polifenoles y de acuerdo a las evidencias reportadas donde utilizan diversos extractos respaldan el hecho de que la combinación de diferentes polifenoles puede actuar de manera favorable el crecimiento de *Akkermansia* en el intestino.[56]

Pese a que la mayoría de las investigaciones han involucrado animales, una investigación sueca mostró que los niños preescolares obesos tienen niveles significativamente más bajos de *A. muciniphila* que sus pares de peso normal.[57]

Existe poca evidencia en humanos acerca de la asociación entre el consumo de los polifenoles y la abundancia relativa de *Akkermansia muciniphila*, por lo que se requieren estudios que corroboren estas hipótesis.

Justificación

La obesidad es considerada un problema de salud en todo el mundo, actualmente declarada como emergencia epidemiológica en nuestro país; el cual ocupa el primer lugar a nivel mundial en obesidad infantil.

Se ha descrito que la dieta es un fuerte determinante del equilibrio microbiano intestinal y que la composición de bacterias que colonizan la microbiota intestinal (MI) se asocia con varios procesos patológicos, incluyendo la obesidad y comorbilidades relacionadas.

Por otra parte, se ha evidenciado que los componentes de la dieta como los polifenoles promueven un potencial efecto prebiótico que incrementa la abundancia de bacterias consideradas benéficas, entre ellas *Akkermansia muciniphila*.

Los resultados de este estudio contribuirán a un mejor entendimiento del efecto del consumo de polifenoles sobre la disbiosis secundaria a obesidad incrementando la abundancia relativa de *A. muciniphila* como una posible estrategia que promueva un estilo de vida saludable desde edades muy tempranas.

Planteamiento del problema

¿La ingesta de polifenoles y la abundancia relativa de *Akkermansia muciniphila* se asocia con alteraciones metabólicas, en población infantil?

Objetivos

General

- Determinar si las alteraciones metabólicas se asocian con la ingesta de polifenoles y la abundancia relativa *de Akkermansia muciniphila* en población infantil.

Específicos

- Determinar la presencia de alteraciones metabólicas en la población de estudio.
- Determinar la abundancia relativa de *Akkermansia muciniphila* en población infantil
- Determinar el consumo de polifenoles en la población de estudio
- Evaluar la asociación entre las alteraciones metabólicas (Niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos, HDL, LDL), la ingesta de polifenoles y la abundancia relativa de *Akkermansia muciniphila* en población infantil.

Marco teórico

Obesidad y alteraciones metabólicas

La obesidad es una enfermedad de etiología multifactorial, de curso crónico, caracterizada por desórdenes metabólicos, inflamación de bajo grado y aumento de la grasa corporal, cuya magnitud y distribución condicionan la salud del individuo.[6,7] En la práctica clínica, para categorizar el estado nutricional del individuo respecto al sobrepeso y la obesidad es comúnmente utilizado el índice de masa corporal (IMC), sin embargo, los criterios de este índice en niños a partir de los 2 años de edad y en adolescentes son distintos a los utilizados en adultos. De acuerdo al Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) y la Academia Americana de Pediatría (AAP), la clasificación de peso en niños y adolescentes, se define utilizando la edad y sexo. Los niños con un IMC ≥ al percentil 95 se definen como con obesidad.[8]

Se ha evidenciado mayor asociación entre el tejido adiposo hipertrófico con distribución predominantemente central o visceral y la presencia de alteraciones metabólicas, como dislipidemia, resistencia a la insulina, hipertensión arterial (HTA), aterogénesis y síndrome metabólico, lo que sugiere que la prevalencia de estas alteraciones metabólicas incrementa proporcionalmente con el grado de obesidad y condiciona a un aumento en la morbimortalidad de los individuos obesos.[3]

La HTA es una afección en la cual la presión en los vasos sanguíneos es continuamente alta, lo que puede provocar dilataciones y zonas de debilidad en la pared vascular, aumentando las probabilidades de obstrucción y rotura. La HTA se define como una tensión sistólica igual o superior a 140 mmHg y una tensión diastólica igual o superior a 90 mmHg. Los niveles normales de ambos tipos de presión, son particularmente importantes para el funcionamiento eficiente de órganos vitales.[9] Se ha evidenciado que los niños y adolescentes con presión arterial elevada son más propensos a ser diagnosticados con hipertensión en la edad adulta.[10] Además, ante otros factores de riesgo, aumentan la probabilidad de infarto de miocardio, accidente cerebrovascular e insuficiencia renal.[11,12,13] La asociación entre obesidad y presión arterial, tienen una relación directa y estudios sustentan una alta prevalencia de HTA en niños y adolescentes obesos comparados con los de peso normal. [14,15] [16]

La hiperglucemia es causada por un defecto en la secreción de insulina, lo cual induce una excesiva producción de glucosa por parte del hígado, con una disminución en la captación de glucosa por este órgano, que inicialmente es compensada por las células beta-pancreáticas por lo que liberan más insulina y como consecuencia genera un estado de hiperinsulinismo. Un defecto en las células beta provoca una deficiente producción de insulina lo cual aumenta las cifras de glucemia, llegando finalmente a criterios de DT2.[17,18] El punto de cohorte para glucosa de acuerdo a la Federación Internacional de Diabetes (IDF) debe ser <100 mg/dL.[19]

La dislipidemia es caracterizada principalmente por la liberación descontrolada de triglicéridos (TGL) y ácidos grasos del tejido adiposo, una disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) e incremento de los niveles de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y colesterol total (CT).[20, 21] Los niños con obesidad e incremento en la grasa abdominal presentan una elevación de estos parámetros y una disminución del HDL lo cual puede contribuir al desarrollo de enfermedad cardiaca-coronaria, riesgo cardiovascular o formar parte del síndrome metabólico.[22] De acuerdo a la Academia Americana de Pediatría y el Programa Nacional de Educación en Colesterol de los Estados Unidos de América (EUA) la dislipidemia en niños y adolescentes se define como CT >200 mg/dL, LDL >130 mg/dL, HDL < 35 mg/dL y TGL >150 mg/dL. Guzmán *et al.,* en 2015, reportaron que los niños con obesidad, presentan niveles de triglicéridos alterados, colesterol HDL bajo, y niveles elevados de glucosa en ayuno.[3]

Se ha reportado que las alteraciones de los parámetros clínico metabólicos asociados a la obesidad son elevados y se encuentran asociados, a los fenómenos combinados del sedentarismo, predisposición genética, factores ambientales y dieta.[3]

Alteraciones metabólicas y microbiota intestinal

Recientemente se ha sugerido que la MI, puede ser un factor importante responsable de funciones metabólicas, nutricionales, fisiológicas y de procesos inmunológicos en el cuerpo humano. [23, 24]

La microbiota hace referencia al conjunto de microorganismos vivos que habitan e interaccionan en diversas partes del cuerpo, tales como la boca, esófago,

estómago, intestino delgado, intestino grueso (colon), recto y ano. Sin embargo, el tracto gastrointestinal contiene el mayor número de microorganismos en los seres humanos. [25,26,27] Por sí sola, la MI tiene la mayor densidad y variedad de bacterias en el cuerpo humano debido a las condiciones ideales de crecimiento proporcionadas por este órgano.[4] La MI es específica de cada individuo y se adquiere en gran parte durante los primeros días de vida, sin embargo en la población infantil varia en su composición y es menos estable en el tiempo. Esta población bacteriana se modifica a lo largo de los años debido a cambios en el estilo de vida, el uso temprano y a largo plazo de antibióticos[26] y la dieta, por lo que difiere entre sujetos obesos y delgados.[28]

La mayoría de los microorganismos que habitan el colon pertenecen predominantemente a dos filos bacterianos: *Firmicutes y Bacteroidetes*, siendo este último el más abundante. Otros filos también están presentes en proporciones más bajas como A*ctinobacteria* y *Verrucomicrobia.* [29]

Aunque los factores de estilo de vida, la dieta y el ejercicio contribuyen en gran medida a la creciente prevalencia de la obesidad y las alteraciones metabólicas asociadas, la MI también está implicada en los trastornos metabólicos, principalmente mediante la respuesta inmune innata a los componentes estructurales de bacterias (por ejemplo, lipopolisacárido). [30]

También las bacterias de la MI participan en la degradación de toxinas procedentes de la dieta; en la síntesis de micronutrientes como vitamina K, vitamina B12 y ácido fólico; en fermentación de sustancias no digeribles; absorción de electrolitos y minerales, y en la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC). [30] De esta manera contribuyen al mantenimiento de las funciones del intestino grueso y ayudan a prevenir patologías a través de su metabolismo por los colonocitos.[31] La MI está involucrada en la regulación de múltiples vías metabólicas a través de la incorporación de los metabolitos microbianos al torrente sanguíneo, que son absorbidos en el intestino y colon, donde se lleva a cabo la fermentación y degradación de macromoléculas. Además, participa en la señalización y respuesta inmune inflamatoria que conectan fisiológicamente el intestino, hígado, músculo y cerebro. [32, 33]

Se ha propuesto que la inflamación crónica de bajo grado, promovida por interacciones entre la dieta de un individuo y cambios específicos en la composición de su MI, es un factor importante que subyace a los trastornos metabólicos asociados a la obesidad.[4,34,27]

Se ha evidenciado que existe una relación entre la población bacteriana en el intestino sin hacer diferenciación de géneros o especies con un incremento de colesterol sérico. [35,14] Estudios realizados en modelos animales han mostrado que una dieta rica en grasas está asociada con una menor abundancia de Bacteroidetes y un predominio de Firmicutes.[12] Además el contenido de triglicéridos es 2.3 veces mayor al observado en el grupo control.[36] Por otro lado, otros autores sugieren que a diferencia de los niños con obesidad, los niños delgados presentan mayor prevalencia del género *Bifidobacterium* durante el primer año de vida.

El filo *Verrucomicrobia* forma un *phylum* filogenéticamente divergente dentro del grupo de bacterias.[19] *A. muciniphila* fue *descrita en el año 2004,* es el primer miembro intestinal caracterizado en el género *Akkermansia que* pertenece a la clase Verrucomicrobiae, al orden Verrucomicrobiales, y a la familia Verrucomicrobiaceae.[*37,38*] Representa una bacteria abundante, presente en el tracto intestinal humano constituyendo hasta 1-5% de la población bacteriana en el colon, *es una bacteria gram negativa,* de forma oval, clasificada como anaerobia, sin embargo, es capaz de tolerar el oxígeno en bajas concentraciones; *ha sido aislada del moco intestinal en modelos animales y es* capaz de usar mucina como fuente de carbono y nitrógeno.[*39,40,41*] Diversos estudios han demostrado que *A. muciniphila* está presente en distintas partes de la mucosa intestinal y puede ser obtenida de muestras fecales.[42]

A. muciniphila coloniza en la vida temprana el tracto intestinal y aproximadamente en el primer año de vida, su abundancia es comparable a la observada en adultos sanos.[41] Se ha reportado una mayor abundancia relativa de *A. muciniphila* en ratones jóvenes respecto a ratones adultos.[36] Además, en presencia de una alimentación hipercalórica, esta bacteria se reduce hasta un nivel 10.000 veces menor que la inicial [43] lo que promueve una baja expresión de proteínas estrechas de unión entre las células epiteliales del intestino,

generando mayor permeabilidad en el epitelio intestinal y un aumento de LPS en circulación sanguínea lo que establece una endotoxemia metabólica.

Aunque *Akkermansia* es un género relativamente nuevo y la evidencia disponible es limitada, Ouwerkerk *et al*. sugieren que *A. muciniphila* es altamente adaptable y es capaz de proliferar derivando energía de diferentes dietas.[38] [44] La evidencia en modelos animales propone que *A. muciniphila* tiene un papel causal en la mejora de la homeostasis de la glucosa, la disminución de la inflamación del tejido adiposo y el aumento de la integridad intestinal.[45,46]

Polifenoles y Akkermansia muciniphila

Los patrones dietéticos influyen en la diversidad de la MI y una dieta basada en polifenoles parece ser de gran impacto. Los polifenoles son compuestos naturales que se encuentran abundantemente en una amplia variedad de alimentos, como en productos derivados de plantas, frutas, verduras, hierbas, semillas, cereales y en bebidas, como café, té y vino. Sin embargo se ha evidenciado que las uvas, las cerezas, las ciruelas y arándanos tienen concentraciones muy altas de fenoles.[32,47]

Los polifenoles se clasifican en dos grandes grupos: los flavonoides y lo no flavonoides. Dentro de los flavonoides se distinguen, los grupos de acuerdo con la estructura C-heterocicla: flavonoles, flavonas, flavan-3-oles, isoflavonas, flavanonas, dihidroflavonoles, antocianidinas, y chalconas. Los compuestos no flavonoides incluyen ácidos fenólicos, taninos hidrolizables, y estilbenos entre otros[48]. Su consumo per cápita varía típicamente alrededor de 1 g/día, sin embargo, datos sobre el tipo y cantidad de los metabolitos de polifenoles dietéticos en humanos son escasos y no son claros. Cumplen Son metabolizados por enzimas intestinales y hepáticas y por la MI. [49] Una vez ingeridos, los polifenoles son reconocidos por el cuerpo humano como xenobióticos, por lo cual, su biodisponibilidad es relativamente baja en comparación con los micro y macronutrientes. La ingesta total de polifenoles absorbida por el intestino delgado es aproximadamente del 5-10%.[21] Después de reacciones de desconjugación, los compuestos fenólicos se convierten en estructuras monoméricas y diméricas, es decir; menos complejas los cuales pueden ser sometidos a un proceso de oxidación, reducción e hidrolisis. La

biotransformación de estos compuestos genera agua soluble y metabolitos como metilo, glucurónidos y derivados de sulfato que son liberados a la circulación sistémica para posteriormente ser distribuidos a los órganos y finalmente excretados por la orina y bilis. [49]

El 90 a 95%[50] de los polifenoles que no son absorbidos en el intestino delgado, son transformados en el colon por la MI en compuestos fenólicos más simples lo cual permite la posterior absorción. Los polifenoles en la dieta tienen una mayor biodisponibilidad de hecho se han observado asociaciones entre la ingesta dietética de polifenoles y la reducción del riesgo de enfermedades crónicas así como efectos beneficiosos en la MI.[51] Sin embargo, la especificidad estructural de los polifenoles y de la MI, determina el nivel de biotransformación que se producen en el intestino [49,52,53]

Diversos estudios en animales han reportado que el consumo de polifenoles pueden modificar la composición microbiana, mostrando una reducción y/o incremento de ciertos grupos bacterianos.[51,54,55] La administración de polifenoles y la abundancia de *A. muciniphila* se encuentra asociado además, con la inhibición del aumento de peso, la mejora de la sensibilidad a la insulina, la reducción del contenido de triglicéridos y la inflamación intestinal.[42,54,51]

La compleja relación entre *A. muciniphila* y la capa de moco sigue sin estar clara ya que la administración de *A. muciniphila* podría estimular la recuperación de la capa de moco, de manera generalizada han señalado que la actividad de degradación de mucina de *A. muciniphila* conduce a la producción de propionato y acetato y se ha demostrado que este miembro bacteriano modula la expresión de genes del epitelio intestinal del huésped que están implicados en el metabolismo[56] de esta manera se logra activar al receptor de la histona deacetilasa intestinal 3/5 que está asociado a su vez con la reducción de la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1) y el incremento de la interleucina-8 (IL-8) lo que reduce la inflamación intestinal y sistémica. Además, los AGCC activan la expresión de PPAR-gama; en las células de Paneth, y lo cual aumenta la producción de RegIII, (que por sus efectos bactericidas) controlan la proliferación de otras poblaciones bacterianas que potencialmente compiten contra *A. muciniphila.*[82] [83] Aunado a la administración de los

polifenoles que por su actividad inhibidora elimina los radicales libres de oxígeno en el lumen intestinal, creando una presión selectiva que favorece especies anaerobias. Se sugiere que *A. muciniphila* es capaz de modular la inflamación y la inmunidad a través de señales tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), interferón gamma (IFN-γ), la interleucina (IL) -10 y la IL-4.[68] Se sugiere además que A. muciniphila conduce hacia la secreción de MUC2 intestinal lo cual ayuda a mantener el espesor de la capa de moco como barrera intestinal contra bacterias patógenas y antígenos ambientales.[58]

Los polifenoles también pueden eliminar los radicales libres de oxígeno en el lumen intestinal, creando una presión selectiva que favorece especies anaerobias. También pueden ejercer efectos antimicrobianos sobre otras bacterias que degradan la mucina favoreciendo que *A. muciniphila se establezca*.

Los estudios in vitro sugieren que *A. muciniphila* aumenta la producción intestinal del factor inductor de adiposo-rápido (FIAF), que inhibe la acumulación de grasa en el huésped[45] *y* puede afectar la actividad de PPAR-gama en células epiteliales del intestino para controlar el metabolismo de los lípidos. El mecanismo por el que los polifenoles ejercen un efecto prebiótico en la proliferación de *A. muciniphila* es multifactorial. Se sugiere que podría actuar sobre las células caliciformes para aumentar la secreción de moco, y favorezca un ambiente para la abundancia de *Akkermansia.* Los polifenoles no absorbidos podrían inhibir especies reactivas del oxígeno, lo que favorece el crecimiento de *A. muciniphila*. [20]

Además, la actividad antimicrobiana específica de los polifenoles de fuentes tales como arándanos y uvas Concord, también podría desempeñar un papel importante al limitar el crecimiento de otras especies que degradan mucina, y eliminar la competencia para *A. muciniphila* sobre el mismo sustrato, evitando la reducción de la capa de moco. [20]

Aunque la causa de la obesidad es el exceso de ingesta de calorías en comparación con el gasto energético, las diferencias en la microbiana intestinal entre los seres humanos pueden ser un factor importante que influye en la homeostasis de la energía; es decir, los individuos con predisposición a la

obesidad pueden tener comunidades microbianas del intestino que promueven la extracción más eficiente y/o almacenamiento de energía a partir de una determinada dieta, en comparación con las comunidades de las personas delgadas.

Los polifenoles, además de sus funciones antimicrobianas y metabólicas sistémicas, también juegan un papel en la inhibición de las bacterias intestinales.

Los estudios experimentales en el que se incluyen trasplantes de MI en ratones y en seres humanos indican que una composición especifica de la MI puede ser la causa y no sólo la consecuencia de la enfermedad metabólica y un estado obeso, lo que sugiere una modulación de la microbiota intestinal viable en la prevención y tratamiento de la obesidad y las enfermedades metabólicas relacionadas mediante el consumo mayor de polifenoles en la dieta habitual.

Aunque múltiples estudios han reportado una asociación de la abundancia relativa de *Akkermansia muciniphila* en la MI y la disminución y/o mejoría de las alteraciones metabólicas en modelos animales en presencia de polifenoles, se han propuesto diversos mecanismos para este efecto modulador de los polifenoles sobre la microbiota intestinal y se considera que el crecimiento bacteriano y su metabolismo se ven afectados por la estructura química de los polifenoles, la dosis administrada y la proporción inicial de las especies y cepas microbianas.[53]

Metodología

Diseño del estudio y población

El presente estudio es de tipo transversal, con una muestra de 1560 niños; las edades oscilaran entre 6 y 14 años, a partir del estudio original “Evaluación de la interacción entre el consumo de macronutrimentos y el perfil de la microbiota del colon distal y su asociación con obesidad infantil (SSA/IMSS/ISSSTE-CONACYT 000000000180808)” llevado a cabo entre el período del mes de junio del año 2011 al mes de julio del año 2013 el cual fue aprobado por la comisión de ética e investigación del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP aprobación 1294).

Se realizó un muestreo simple no probabilístico, en niños residentes de la ciudad de México, en los cuatro puntos cardinales de la ciudad (norte, sur, este y oeste); sin antecedentes de diabetes, hipertensión arterial y/o enfermedad cardiovascular y que no estuvieran relacionados entre sí.

Personal previamente capacitado y estandarizado fue el responsable de explicar el proceso del proyecto original y el desarrollo para la obtención de información de datos socioeconómicos, demográficos, antecedentes patológicos personales y heredofamiliares, así como actividad física y dieta mediante una entrevista realizada a los niños junto con su padre o tutor a quienes se les pidió la firma del asentimiento y consentimiento informado para su participación en el mismo. También se realizaron mediciones antropométricas, toma de muestra sanguínea y de heces. Los niños que presentaban al momento de la entrevista diagnóstico de enfermedades infecciosas, desórdenes gastrointestinales o que hubieran tomando antibióticos durante 6 meses previos al estudio fueron excluidos.

Mediciones antropométricas

Las determinaciones antropométricas se realizaron con ropa ligera y sin calzado, del cual se obtuvo; el peso (kg), empleando básculas de la marca SECA, con una precisión de 0.1 kg. La talla, circunferencias de cintura y cadera, fueron determinadas en cm con un estadiómetro y cintas antropométricas de la marca SECA con precisión de 1 mm respectivamente, cumpliendo las recomendaciones internacionales.[59,60] Dichas mediciones fueron llevadas a cabo por personal capacitado y estandarizado de acuerdo al método Habicht[59]. Posteriormente con la información de peso y talla se calculó el Índice de Masa

corporal (IMC, kg/m^2), clasificándose como normo peso, sobrepeso y obesidad, de acuerdo al puntaje z de IMC por edad y sexo con base a los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los puntos de corte fueron: normal -2 a+1 DE*, sobrepeso >+1 DE, obesidad >+2 DE.

Determinación de pruebas bioquímicas

La toma de muestras sanguíneas en los sujetos participantes fue posterior a un ayuno de 12 horas para la determinación del perfil bioquímico (glucosa, colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos y niveles de insulina), las cuales fueron realizadas conforme a lo establecido por la American Heart Association/National Heart, Lung Blood Institute Scientific Statement (AHA/NHLBI)[61] mediante el equipo Clinical Chemistry System ILAB 300 plus® y la medición de insulina por el método de quimioluminiscencia con el equipo INMULITE® en la unidad de Bioquímica del Centro Médico Nacional Siglo XXI, en un periodo menor o igual a 2 horas.

Actividad Física

Se aplicó el cuestionario de actividad e inactividad física “Bernardo” el cual fue adaptado para escolares de la ciudad de México.[62] Se obtuvo información acerca de la actividad e inactividad física realizada de forma habitual en el último mes (Horas de actividad física moderada así como actividades sedentarias). El tipo y la duración de actividad o inactividad física fueron transformadas en equivalentes metabólicos (MET/hora/semana) mediante el software “Food Processor Nutrition and Fitness Analysis”, versión 10,12.0 (ESHA Research Inc., Oregon, EE.UU.).[62]

Información dietética

Se aplicó un Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA) semicuantitativo, dicha versión fue adaptada para la población infantil y elaborado siguiendo la metodología descrita por Walter Willet.[63] Se obtuvo información de 107 alimentos divididos en 11 secciones: productos lácteos, frutas, verduras, leguminosas, huevos, carnes y embutidos, platillos típicos, cereales, bebidas, golosinas y postres, grasas, y suplementos, con opciones de respuesta desde nunca hasta 6 o más veces al día. El período de referencia fue el consumo durante el último mes.

Se obtendrá la cantidad en gramos por día de cada uno de los alimentos que reporto el participante en el CFCA. A partir del consumo en gramos y usando la base de datos del valor nutritivo de los alimentos desarrollada por INSP,[36] se determinó la ingesta diaria de cada uno de los macronutrimentos y la ingesta de energía diaria total de cada participante. Para aquellos ítems que son un platillo (combinación culinaria de diversos alimentos, se tomará la información de recetas que se encuentra en dicha base de datos.

Se agregará a la base los datos proporcionados por el Departamento de Agricultura de los EE. UU así como los que se encuentran disponibles en las tablas de nutrimentos del Gobierno Australiano para la obtención en gramos de los polifenoles por cada 100 gr de alimentos considerados en el CFCA. Se procederá a realizar el cálculo individual para obtener el consumo de polifenoles al día de cada niño de acuerdo a lo reportado en el CFCA. El consumo promedio de polifenoles será categorizado de acuerdo a la distribución en toda la población de estudio (bajo, medio y alto).

Determinación de Akkermansia Muciniphila

Extracción y cuantificación de DNA total en heces

A partir de muestras de heces de 1560 participantes, se llevó a cabo la extracción de DNA mediante el kit QIAmp® DNA Stool, Mini kit for human (Qiagen, Hilden, North Rhine-Westohalia), posteriormente se cuantifico la concentración y pureza del DNA (260/280) en el equipo NanoDrop 1000 Thermo Scientific (Saveen Werner ApS, Dinamarca) y se almacenaran a una temperatura de -20°C para su posterior uso.

Curva de estandarización de la abundancia relativa de *A. muciniphila* por PCR en tiempo real.

Para obtener las condiciones óptimas de amplificación para *A. muciniphila* se realizarán las correspondientes estandarizaciones de la técnica.

Se realizaran diluciones de DNA a concentraciones de 5 ng/µL, 10 ng/µL y 15 ng/µL, oligonucleótidos (sentido y antisentido) Universal (Gen de referencia que reconoce el gen ribosomal 16S de las bacterias) y A. *muciniphila* de se utilizaran a una concentración de 1 pmol/µL, 5 pmol/µL y 10 pmol/µL, para la

estandarización de la temperatura de alineamiento (se realizaran gradientes de temperatura de 50-66ºC). Además, se utilizará un control negativo (mezcla de los oligonucleótidos sin DNA molde). Todas las reacciones se realizarán utilizanndo SYBR® Green, en placas de 96 pozos. Las reacciones se realizarán en el equipo Step One Plus real-time PCR system (Applied Biosystems, E.U.).

La amplificación específica del gen de interés se confirmará mediante la curva de disociación (curva melt o curva melting) corroborando que la fluorescencia respecto del tiempo (dF/dT) presente un solo pico.

Oligos	**Secuencia**	**TM °C**	**Concentración de oligos (pmol/uL)**	**Tamaño esperado**	**G+C (%)**	**Referencia**
Universal	F: AAACTCAAAKGAATTGACGG	58	10		37.5	De Gregoris *et al*., 2011
	R: CTCACRRCACGAGCTGAC	58	5	180 pb	61.11	
A.muciniphila	F:CAGCACGTGAAGGTGGGGAC	63	5		65	Collado et al., 2007 [41]
	R: CCTTGCGGTTGGCTTCAGAT	63	5	349 pb	55	

Evaluación de los productos de PCR mediante electroforesis

Una vez estandarizada la amplificación del DNA con los oligonucleótidos específicos, se verificó el tamaño de los fragmentos amplificados con los oligonucleótidos de *A. muciniphila* en geles de agarosa al 1.5% con buffer TAE 1X. La electroforesis se realizó durante 30 a 40 minutos a 100 voltios. Se colocó el gel teñido con bromuro de etidio (EtBr) sobre un transiluminador de luz ultravioleta para verificar el tamaño del fragmento esperado.

Purificación y secuenciación de los productos de PCR

Para comprobar que la secuencia corresponda a la especie de *A. muciniphila*, se cortó la banda del producto amplificado y se purificó mediante el Kit de purificación de DNA “QIAquick® Gel Extraction Kit” (QUIAGEN). El producto de PCR purificado fue mezclado con el oligonucleótido de amplificación antisentido (3’->5’) para *A. muciniphila* y fue enviado a secuenciar en la Unidad de Síntesis y Secuenciación del Instituto de Biotecnología de la UNAM. Los archivos de secuenciación serán leídos en el programa Chromas. El alineamiento de la

secuencia se realizará en el programa BLAST (nucleotide-blast) de la página NCBI.

Análisis por qPCR de las muestras de ADN bacteriano

Posteriormente con las condiciones de amplificación ya estandarizadas, se procedió a la amplificación de cada una de las 1,560 muestras de DNA con los oligonucleótidos universal y de *A. muciniphila* antes mencionados.

La amplificación por qPCR se realizó con las siguientes condiciones; 5µl de SYBR® Green/ROX (2X) qPCR Master Mix, 1 µL de oligonucleótido Forward y 1 µL de Reverse, 2 µL de agua libre de RNasas y DNasas, y por último 1 µL de la muestra de DNA una concentración de 5 ng/µL, obteniendo un volumen final de 10 µL para cada pozo en las placas de PCR. Cada reacción se realizó por duplicado para que la eficiencia de la amplificación tuviera un rango de error menor, además se colocó un control negativo en cada placa.

Las condiciones de amplificación de qPCR se realizarán en el equipo Step One. Las condiciones de amplificación incluyeron un paso inicial de desnaturalización por 10 minutos a 95°C, desnaturalización por 15 segundos a 95°C, alineamiento a 58 °C (Universal) y 63 °C (*A. muciniphila*) por 15 segundos y la extensión a 95 °C por 1 minuto. Finalmente, para la curva de disociación las condiciones serán: 95 °C por 15 segundos, 60 °C por 1 minuto y un incremento gradual de temperatura de 0.1/0.2 °C hasta alcanzar la temperatura de 95 °C por.

Se corroborará que las muestras de DNA amplificadas efectivamente presenten un solo pico en la curva de disociación

Determinación de Abundancia Relativa de *Akkermansia muciniphila*

La cuantificación de las unidades de abundancia relativa de *A. muciniphila* se obtuvo con el método comparativo de Ct (número de ciclo en el cual la fluorescencia alcanza el umbral de detección, obtenido por medio del PCR tiempo real), el cual calcula la abundancia relativa de A. *Muciniphila* en comparación con el gen normalizador, en este caso con el oligonucleótido universal (Schmittgen y Livak, 2008).

Se utilizó la siguiente fórmula: $\mathbf{2^{-\Delta Ct}}$

Dónde:

2= Representa la eficiencia máxima de la PCR

ΔCt= Ct del gen de interés (A. *Muciniphila)* - Ct del gen normalizador (universal)

Se realizó la determinación de abundancia relativa A. *Muciniphila* para cada una de las muestras, y se obtuvieron promedios de cada especie para comparar con el IMC poblacional.

Operacionalización de variables

Variable	Nombre de la variable	Definición	Indicador	Codificación
Dependiente	Colesterol total HDL LDL Triglicéridos Glucosa Insulina	*Alteración* que ocurre cuando hay reacciones anormales que interrumpen el *metabolismo*	Alterado deacuerdo a los criterios establecidos por la IFD	0= Normal 1=Alterado
Independiente	Ingesta de polifenoles Abundancia relativa de *A.muciniphila*	Cantidad de polifenoles consumidos al día Abundancia relativa de *A.muciniphila*	Gramos por día	0= Bajo 1= Medio 2= Alto UAR (la cantidad aproximada de *A. muciniphila* en 10 gramo de heces)
Covariables	Edad	Periodo entre la fecha de nacimiento y la fecha actual	Años cumplidos	AÑOS
	Sexo	Distinción de genero entre Ser hombre o mujer	Hombre /mujer	0= Hombre 1= mujer
	Antecedentes heredofamiliar de obesidad	Presencia de obesidad en padres o abuelos.	Auto reporte al momento de la entrevista	0= No 1= Si
	Antecedentes heredofamiliar de Diabetes tipo 2	Presencia de obesidad en padres o abuelos.	Auto reporte al momento de la entrevista	0= No 1= Si
	Actividad física	Movimiento corporal que demanda un gasto energético	Auto reporte al momento de la entrevista	0= No 1= Si

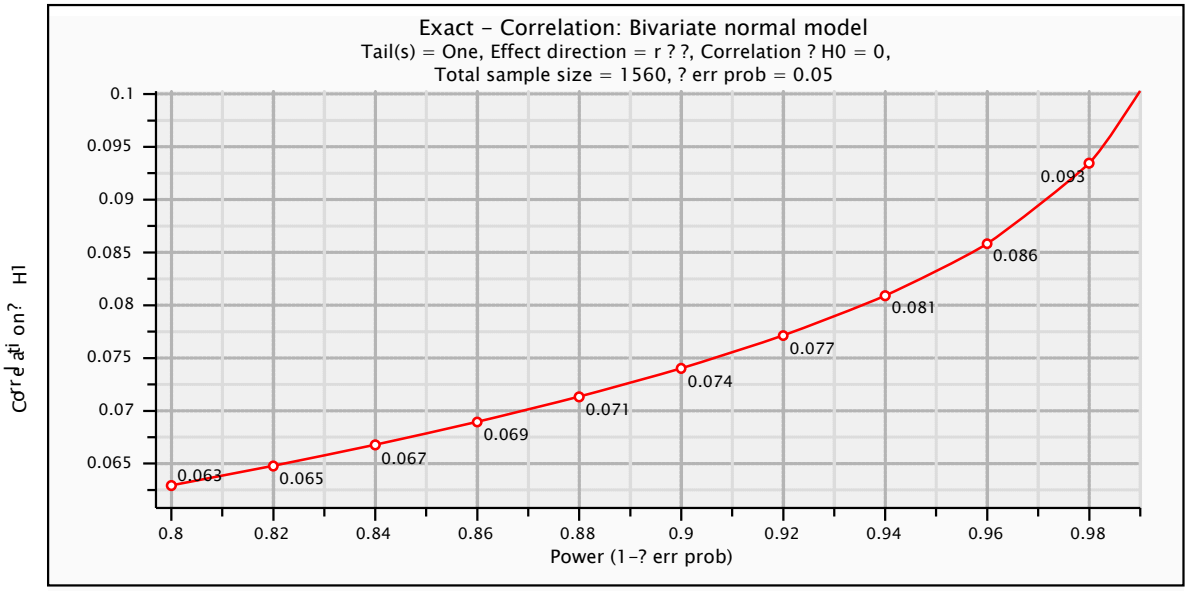
Análisis estadístico

Se realizará un análisis descriptivo, obteniendo frecuencia para las variables categóricas y medidas de tendencia central y dispersión para las variables

continuas. Mediante modelos de regresión ajustado por potenciales confusores se evaluará la asociación de alteraciones metabólicas con el consumo de polifenoles y la abundancia relativa de *A. muciniphila*.

Poder estadístico

El tamaño de muestra definido en este estudio será de 1560 sujetos. Debido a que no se cuenta con estudios publicados en población infantil acerca de la variable de interes, no se puede identificar de forma adecuada una magnitud de diferencia y dispersión puntual para la variable. Dichas simulaciones se realizaron en el software Epidat 3.1 y se utilizaron distintos escenarios de coeficientes de correlación teóricos para ver el poder estadístico que se tendría con una confianza del 95% por lo que se esperaría un poder estadístico mínimo de 0.80.



Resultados

El presente estudio incluyó 1190 niños que presentaron proporciones similares por género, la mediana de edad fue de 9 años en ambos grupos. En la tabla 1 se muestran las características generales, bioquímico metabólicas y de dieta de acuerdo al género. En los niños, el peso, circunferencia de cintura, índice cintura cadera y presión arterial sistólica fueron significativamente más elevadas en relación a las niñas (p<0.001); En cuanto a los parámetros bioquímicos los niños se caracterizaron por tener mayores concentraciones de glucosa (84 vs 80 mg/dL, p=0.001); sin embargo, en las niñas las concentraciones de triglicéridos fueron mayores (86 vs 77 mg/dL, p=0.001) y las de HDL fueron menores (49 vs 52 mg/dL). En cuanto al consumo de polifenoles no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos (tabla 1). La prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en esta población fue de 52.7%, afectando en mayor proporción al género masculino. En la tabla 2 se muestra que los individuos que presentan sobrepeso u obesidad, presentan evidentemente mayores perímetros corporales, así como PAS y PAD. Los antecedentes heredofamiliares de obesidad, también fueron más frecuentes en aquellos niños con exceso de peso en comparación con los de peso normal (61.1% vs 47.3%, p<0.001). Las concentraciones de los parámetros metabólicos también fueron más elevadas en niños con exceso de peso (Sp y Ob); glucosa (82.5 vs 81 mg/dL, p<0.001), colesterol total (161 vs 153 mg/dL, p<0.001) triglicéridos (98.5 vs 69 mg/dL, p<0.001), LDL (106 vs 96, p<0.001) y menor HDL (47.5 vs 53, p<0.001). Sin embargo, por estratos de adiposidad no se observaron diferencias en la abundancia relativa de *A. muciniphila.*

La abundancia relativa se estratifico en terciles, considerando el tercil inferior como “baja” abundancia relativa y los terciles dos y tres como abundancia “normal/alta”. Los individuos con baja abundancia relativa de *A. muciniphila*, mostraron mayores concentraciones de triglicéridos (82 vs 76.5 mg/dL p=0.20) y disminución de HDL (50 vs 51, p=0.25 mg/dL) (Tabla 3).

Con respecto al consumo de polifenoles y su relación con las características metabólicas, se observó una tendencia entre el bajo consumo de estos y las concentraciones de colesterol más elevadas (159 vs 156 mg/dL, p=0.63),

triglicéridos (82 vs 79.5 mg/dL, *p*=0.64) y LDL (102 vs 99 mg/dL, *p*=0.23), así como menores niveles de HDL (50 vs 50.5 mg/dL, *p*=0.24) (Tabla 4).

En el modelo de regresión logística ajustando por edad, sexo y z-score de IMC, se observó que la abundancia relativa baja de *A. muciniphila* se asocia con un incremento promedio en 6 mg/dL de triglicéridos; pero con una disminución promedio en las concentraciones de HDL de 2.8 mg/dL respecto a los niños que presentan una abundancia relativa “alta” de *A. muciniphila* (*p*=0.002 y *p*=0.01, respectivamente) (tabla 5).

Al explorar la asociación además del consumo de polifenoles totales y las alteraciones metabólicas no se observan diferencias estadísticamente significativas; sin embargo, de se evidenció que el consumo bajo de polifenoles, se asocia de manera marginal con un incremento promedio de 3.8 mg/dL en las concentraciones de colesterol total (*p*=0.05). (Tabla 5). Se evidenció además de manera similar que el consumo bajo de específicamente dos tipos de polifenoles (antocianidinas y flavon3oles) se asocian con el incremento de las concentraciones de triglicéridos (p=0.02 y *p*=0.03 respectivamente) (Figura 1).

Tabla 1. Características generales de la población de estudio por género.

Características	Total n= 1190 (100%)	niños n= 654 (54.96%)	niñas n= 536 (45.04%)	Valor P
Edad	9.4 (6.58-13)	9.6 (6.5-13.1)	9.2 (6.5-12.9)	**<0.001**
Peso	34.9 (20.8-62.9)	35.7 (21.3-65.6)	34.4 (20-61.7)	**0.02**
IMC (n %)				
Normopeso	47.31	44.19	51.12	**0.01**
Sp/Ob	52.69	55.81	48.88	
CC	64.9 (51.9- 88.6)	65.7 (51.9-90.6)	64.2 (49.9-87.1)	**0.005**
CCa	76.9 (61.3-98.9)	77.2 (61.9-97.9)	76.7 (60.6-99.1)	0.36
ICC	0.85 (0.77-0.96)	0.85 (0.78-0-97)	0.84 (0.75-0.94)	**<0.001**
PAS (mmHg)	100 (80-118)	100 (80-119)	98 (80-115)	**0.001**
PAD (mmHg)	67.5 (50-80)	67.5 (51-80)	65 (50-80)	0.48
Características Metabólicas				
Glucosa (mg/dL)	82 (67-98)	84 (69-99)	80 (66-96)	**<0.001**
Colesterol total (mg/dL)	158 (108-215)	158 (107-216)	158 (110-214)	0.64
Triglicéridos (mg/dL)	81 (43-196)	77 (39-1829)	86 (47-201)	**<0.001**
HDL (mg/dL)	50 (32-75)	52 (33-77)	49 (30-71)	**<0.001**
LDL (mg/dL)	101 (64-149)	100 (62-153)	104 (68-149)	0.08
UAR *A. muciniphila*	0.2 (1.08^{-6} -11.52)	.03 (2.8^{-6} -10.66)	0.03 (6.51^{-6} -12.64)	0.84
Micronutrimentos				
Polifenoles totales(mg/día)	62.37 (23.82-169.9)	61.4 (23.2-160.02)	64.4 (24.9- 174.05)	0.29
Flavonoles (mg/día)	5.21 (2.5-10.6)	5.1 (2.5-10.4)	5.2 (2.5-10.6)	0.44
Flavonas (mg/día)	0.27(0.09-0.66)	0.26(0.09-0.65)	0.27(0.99-0.72)	0.15
Flavan3oles (mg/día)	7.8(2.4-19.4)	7.8(2.3-20.3)	7.7(2.6-18.8)	0.97
Flavanonas (mg/día)	25.5 (5.3-90.7)	25.9 (5.3-88.02)	25.3 (5.1- 92.4)	0.28
Antocianidinas (mg/día)	19.2 (6.3-69.1)	19.1 (6.34-68.1)	192 (6.3-69.97)	0.61
Isoflavonas (mg/día)	0.46 (0 .19- 2.05)	0.48 (0.19- 1.98)	0.44(0.19- 2.12)	0.12

IMC: índice masa corporal; Sp: sobrepeso; Ob: obesidad; CC: circunferencia de cintura; CCa: circunferencia de cadera; ICC: índice cintura-cadera; PAS: presión arterial sistólica; PAD presión arterial diastólica; HDL: lipoproteínas de alta densidad; LDL: Lipoproteínas de baja densidad; UAR: unidades de abundancia relativa de *A. muciniphila*. Datos mostrados en n y porcentaje y mediana (percentil 5- percentil 95). Valor de p <0.05 considerado estadísticamente significativo. Prueba de U de Mann-Whitney para variables continuas y Chi2 de Pearson para variables categóricas.

Tabla 2. Características clínico-metabólicas por estratos de adiposidad.

Características	Peso normal n= 563 (47.31%)	Sp/Ob n= 627 (52.69%)	Valor P
Edad	9 (6-13)	9 (7-13)	**<0.001**
Género			
Masculino	290 (44.01)	369 (55.99)	**0.01**
Femenino	275 (51.12)	263 (48.88)	
Talla (cm)	1.31 (1.16-1.58)	1.39 (1.21-1.6)	**<0.001**
CC (cm)	57 (49.5-69.2)	73.8 (59.7-92.6)	**<0.001**
CCA (cm)	69.6 (59.8-86.5)	84.05 (69.8-102.1)	**<0.001**
ICC	0.82 (0.75-0.89)	0.88 (0.79-0.98)	**<0.001**
PAS (mmHg)	95 (80-112)	100 (83-120)	**<0.001**
PAD (mmHg)	64 (50-77.5)	70 (55-80)	**<0.001**
Características Metabólicas			
Glucosa (mg/dL)	81 (66-98)	82.5 (68-98)	**0.014**
Colesterol total (mg/dL)	153 (107-208)	161 (109-129)	**0.001**
Triglicéridos (mg/dL)	69 (40-129)	98.5 (48-217)	**<0.001**
HDL (mg/dL)	53 (36-77)	47.5 (30-69)	**<0.001**
LDL (mg/dL)	96 (63-142)	106 (68-156)	**<0.001**
UAR *A. muciniphila*	.03 (2.8-6 -10.66)	0.03 (6.51^{-6} -12.64)	0.84
Características familiares			
AHFDT2	58 (10.3)	86 (13.6)	0.07
AHFPA	101 (17.9)	101 (15.9)	0.37
AHFO	267 (47.3)	386 (61.1)	**<0.001**

Sp: sobrepeso; Ob: obesidad; CC: circunferencia de cintura; CCA: circunferencia de cadera; ICC: índice cintura-cadera; PAS: presión arterial sistólica; PAD presión arterial diastólica; HDL: lipoproteínas de alta densidad; LDL: Lipoproteínas de baja densidad; UAR: unidades de abundancia relativa de *A. muciniphila*. Datos mostrados en n y porcentaje y mediana (percentil 5- percentil 95). Valor de p <0.05 considerado estadísticamente significativo. Prueba de U de Mann-Whitney para variables continuas y Chi2 de Pearson para variables categóricas.

Tabla 3. Características metabólicas por estrato de AR de *A. muciniphila* Alta/Baja

	Abundancia relativa de *A. muciniphila*		
Características metabólicas	Alta	Baja	Valor *p*
Glucosa (mg/dL)	82 (68-99)	82 (67-98)	0.63
Colesterol total (mg/dL)	158 (107-210)	158 (108-217)	0.63
Triglicéridos (mg/dL)	76.5 (40-173)	82 (44-199)	**0.020**
HDL (mg/dL)	51 (33-77)	50 (31-74)	**0.025**
LDL (mg/dL)	100 (65-147)	101.5 (64-151)	0.96

HDL: Lipoproteínas de alta densidad; LDL: Lipoproteínas de baja densidad. Datos mostrados mediana (percentil 5- percentil 95). Valor de p<0.05 considerado estadísticamente significativo. Prueba de U de Mann-Whitney para variables continuas.

Tabla 4. Características metabólicas por estrato de consumo de polifenoles.

	Consumo de polifenoles (gr/día)		
Características Metabólicas	Alto	Bajo	Valor *p*
Glucosa (mg/dL)	82 (68-98)	82 (67-98)	0.63
Colesterol total (mg/dL)	156 (108-209)	159 (108-219)	0.63
Triglicéridos (mg/dL)	79.5 (41-182)	82 (44-197)	0.64
HDL (mg/dL)	50 (32-74)	50.5 (32-75)	0.24
LDL (mg/dL)	99 (64-147)	102 (65-154)	0.23
UAR *A. muciniphila*	0.02 (2.9^{-6} -11.4)	0.03 (4.1^{-6} -12)	0.47

HDL: Lipoproteínas de alta densidad; LDL: Lipoproteínas de baja densidad. Datos mostrados mediana (percentil 5- percentil 95). Valor de p <0.05 considerado estadísticamente significativo. Prueba de U de Mann-Whitney para variables continuas.

Tabla 5. Asociación entre las unidades de abundancia relativa de *A. muciniphila* y consumo de polifenoles con parámetros metabólicos.

Características metabólicas	UAR baja A. muciniphila			Consumo bajo de Polifenoles totales mg/dL		
	Coef	***p***	**IC 95%**	**Coef**	***p***	**IC 95%**
Glucosa mg/dL	-0.542	0.37	(-1.7, 0.6)	0.19	0.72	(-.90, 1.29)
Colesterol total mg/dL	-0.515	0.81	(-4.8, 3.8)	**3.89**	**0.05**	(-0.08, 7.8)
Triglicéridos mg/dL	**6.318**	**0.02**	(0.8, 11.7)	2.69	0.28	(2.3, 7.6)
HDL mg/dL	**-2.080**	**0.01**	(-3.7, -0.4)	0.60	0.41	(-0.85, 2.06)
LDL mg/dL	0.199	0.90	(-3.2 , 3.6)	2.64	0.09	(-0.4, 5.79)

Modelo Ajustado por edad, sexo e IMC.
HDL: Lipoproteínas de alta densidad; LDL: Lipoproteínas de baja densidad.). Valor de *p*<0.05 considerado estadísticamente significativo.

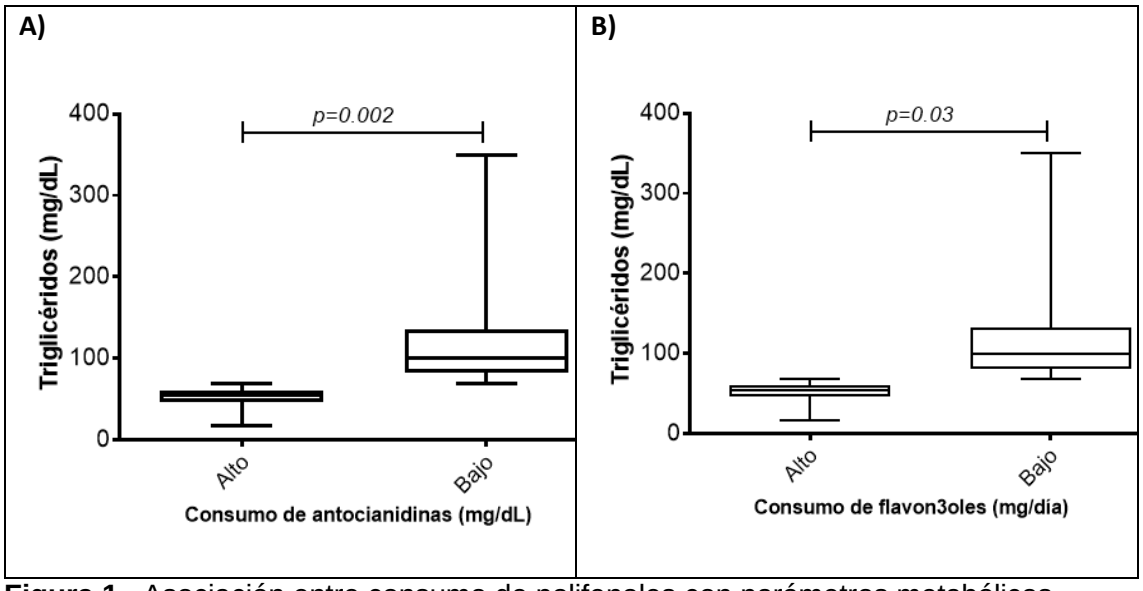


Figura 1. Asociación entre consumo de polifenoles con parámetros metabólicos. Modelo Ajustado por edad, sexo e IMC

Conclusión

Nuestros resultados sugieren que en población infantil la abundancia relativa baja de *A. muciniphila* se asocia significativamente con mayores concentraciones de triglicéridos y con menores concentraciones de HDL, así como también que el bajo consumo de polifenoles dietarios; específicamente de antocinidinas y flavon3oles se asocia significativamente con mayores concentraciones de triglicéridos. Sin embargo, es necesario respaldar este resultado con la realización de otros estudios, evaluando el consumo de polifenoles a través de métodos que permitan su medición de manera más objetiva. Además, es importante alentar a los padres de niños en edad escolar con sobrepeso y obesos a adoptar estilos de vida saludables que incluyan nutrimentos como los polifenoles, a fin de mejorar los parámetros metabólicos e impactar positivamente en la salud durante la niñez y la vida adulta.

Bibliografía

1. WHO. OMS | Sobrepeso y obesidad infantiles. *World Heal Organ*. 2015. http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/es/.

2. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N. Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults 1980-2013: A systematic analysis. *Lancet*. 2014;384(9945):766-781. doi:10.1016/S0140-6736(14)60460-8.Global.

3. Guzmán-Guzmán IP, Salgado-Bernabé AB, Muñoz Valle JF, Vences-Velázquez A, Parra-Rojas I. Prevalencia de síndrome metabólico en niños con obesidad y sin ella. *Med Clin (Barc)*. 2015;144(5):198-203. doi:10.1016/j.medcli.2013.10.033.

4. Ohland CL, Jobin C. Microbial Activities and Intestinal Homeostasis: A Delicate Balance Between Health and Disease. *C Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2015;1(1):28-40. doi:10.1016/j.jcmgh.2014.11.004.

5. Gutiérrez J, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. *Inst Nac Salud Pública*. 2013;2da. Edici.

6. Barquera Cervera S, Campos-Nonato I, Rojas R, Rivera J. [Obesity in Mexico: epidemiology and health policies for its control and prevention]. [Obesidad en México: epidemiología y políticas desalud para su control y prevención.]. *Gac Med Mex*. 2010;146(6):397-407. http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-79953830134&partnerID=40&md5=bf9faba6f46a96f51906b303a47ae94e

7. Weber TK, Polanco I. Gastrointestinal microbiota and some children diseases: A review. *Gastroenterol Res Pract*. 2012;2012. doi:10.1155/2012/676585.

8. Putnam C. Childhood Overweight and Obesity: <http://www.cdc.gov/obesity/childhood>. *J Consum Health Internet*. 2012;16(1):77-84. doi:10.1080/15398285.2012.647575.

9. Información general sobre la HIPER - TENSIÓN en el mundo. 2013.

10. Krzywińska-wiewiorowska M, Stawińska-witoszyńska B, Krzyżaniak A. Environmental variation in the prevalence of hypertension in children and adolescents – is blood pressure higher in children and adolescents living in rural areas ? 2017;24(1):129-133. doi:10.5604/12321966.1230678.

11. Aronow WS. Treatment of systemic hypertension. 2012;2(3):160-170.

12. Kotsis V, Stabouli S, Papakatsika S, Rizos Z, Parati G. Mechanisms of obesity-induced hypertension. *Hypertens Res*. 2010;33(5):386-393. doi:10.1038/hr.2010.9.

13. Re RN. Obesity-Related Hypertension. 2009;9(3):133-136.

14. Poletti OH, Barrios L. Obesidad e hipertensión arterial en escolares de la ciudad de Corrientes , Argentina. 2007;105(4):293-298.

15. Jago R. Prevalence of Abnormal Lipid and Blood Pressure Values Among an Ethnically Diverse Population of Eighth-Grade Adolescents and Screening Implications. *Pediatrics*. 2006;117(6):2065-2073. doi:10.1542/peds.2005-1716.

16. Ramos-Arellano LE, Benito-Damian F, Salgado-Goytia L, et al. Body fat distribution and its association with hypertension in a sample of Mexican children. *J Investig Med*. 2011;59(7):1116-1120. doi:10.231/JIM.0b013e31822a29e1.

17. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med*. 2004;350(23):2362-2374. doi:10.1056/NEJMoa031049.

18. Luengo P�rez LM, Beato V�bora P. Obesidad y sus complicaciones: resistencia insul�nica y diabetes mellitus tipo 2. *Nutr Hosp Supl*. 2010;3:51-61. http://www.nutricionhospitalaria.com/mostrarfile.asp?ID=4796.

19. Zimmet P, Alberti KGM, Kaufman F, et al. The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes*. 2007;8(5):299-306. doi:10.1111/j.1399-5448.2007.00271.x.

20. Klop B, Elte JWF, Cabezas MC. Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets. *Nutrients*. 2013;5(4):1218-1240. doi:10.3390/nu5041218.

21. Raal FJ. Pathogenesis and management of the dyslipidemia of the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 2009;7(2):83-88. doi:10.1089/met.2008.0079.

22. Services H, Permanente K, Lozano P, et al. Number 141 Lipid Screening in Childhood and Adolescence for Detection of Familial Hypercholesterolemia : A Systematic Evidence Review for the U . S . Preventive Services Task Force. 2012;(141).

23. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*. 2007;5(7):1556-1573. doi:10.1371/journal.pbio.0050177.

24. Gerritsen J, Smidt H, Rijkers GT, De Vos WM. Intestinal microbiota in human health and disease: The impact of probiotics. *Genes Nutr*. 2011;6(3):209-240. doi:10.1007/s12263-011-0229-7.

25. Clavel T, Desmarchelier C, Haller D, et al. Intestinal microbiota in metabolic diseases: From bacterial community structure and functions to species of pathophysiological relevance. *Gut Microbes*. 2014;5(4):544-551. doi:10.4161/gmic.29331.

26. G??rard P. Gut microbiota and obesity. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(1):147-162. doi:10.1007/s00018-015-2061-5.

27. Harris K, Kassis A, Major G, Chou CJ. Is the gut microbiota a new factor contributing to obesity and its metabolic disorders? *J Obes*. 2012;2012(Figure 1). doi:10.1155/2012/879151.

28. Ajslev TA, Andersen CS, Gamborg M, Sørensen TIA, Jess T. Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: the role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics. *Int J Obes*. 2011;35(4):522-529. doi:10.1038/ijo.2011.27.

29. Guinane CM, Cotter PD. Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. *Therap Adv Gastroenterol*. 2013;6(4):295-308. doi:10.1177/1756283X13482996.

30. Farías MM, Silva C, Rozowski J. Microbiota intestinal : Rol en o besidad. *Rev Chil Nutr*. 2011;38(1):228-233. doi:10.4067/S0717-75182011000200013.

31. Ros, G., Martínez, C., y Valencia J. Biodisponiblidad De Los Ácidos Grasos De Cadena Corta : Mecanismos De Absorción. *An - Real Acad Ciencias Vet Andalucía Orient*. 2011;24(1):125-134.

32. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science (80-)*. 2012;336(6086):1262-1267. doi:10.1126/science.1223813.

33. Annalisa N, Alessio T, Claudette TD, Erald V, Antonino DL, Nicola DD. Gut microbioma population: An indicator really sensible to any change in age, diet, metabolic syndrome, and life-style. *Mediators Inflamm*. 2014;2014. doi:10.1155/2014/901308.

34. David LA, Maurice CF, Carmody RN, et al. NIH Public Access. *Nature*. 2014;505(7484):559-563. doi:10.1038/nature12820.Diet.

35. Santacruz A, Collado MC, García-Valdés L, et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *Br J Nutr*. 2010;104(1):83-92. doi:10.1017/S0007114510000176.

36. Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Bäckhed F. Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling. *Cell Metab*. 2015;22(4):658-668. doi:10.1016/j.cmet.2015.07.026.

37. Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM. Akkermansia municiphila gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004;54(5):1469-1476. doi:10.1099/ijs.0.02873-0.

38. Ouwerkerk JP, van der Ark KCH, Davids M, et al. Adaptation of Akkermansia muciniphila to the oxic-anoxic interface of the mucus layer1. Ouwerkerk JP, van der Ark KCH, Davids M, et al. Adaptation of Akkermansia muciniphila to the oxic-anoxic interface of the mucus layer. Appl Environ Microbiol. 2016;82(. *Appl Environ Microbiol*. 2016;82(23):6983-6993. doi:10.1128/AEM.01641-16.

39. Reunanen J, Kainulainen V, Huuskonen L, et al. Akkermansia muciniphila adheres to enterocytes and strengthens the integrity of the epithelial cell layer. *Appl Environ Microbiol*. 2015;81(11):3655-3662. doi:10.1128/AEM.04050-14.

40. 2016 Gómez-Gallego et al. (Beneficial Microbes) (IF=3.301, Q2).pdf.

41. Collado MC, Derrien M, Isolauri E, De Vos WM, Salminen S. Intestinal integrity and Akkermansia muciniphila, a mucin-degrading member of the intestinal microbiota present in infants, adults, and the elderly. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(23):7767-7770. doi:10.1128/AEM.01477-07.

42. Anhê FF, Varin T V., Le Barz M, et al. Gut Microbiota Dysbiosis in Obesity-Linked Metabolic Diseases and Prebiotic Potential of Polyphenol-Rich Extracts. *Curr Obes Rep*. 2015;4(4):389-400. doi:10.1007/s13679-015-0172-9.

43. Schneeberger M, Everard A, Gómez-Valadés AG, et al. Akkermansia muciniphila inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice. *Sci Rep*. 2015;5(October):16643. doi:10.1038/srep16643.

44. Dao MC, Everard A, Aron-Wisnewsky J, et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut*. 2016;65(3):426-436. doi:10.1136/gutjnl-2014-308778.

45. Everard A, Belzer C, Geurts L, et al. Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(22):9066-9071.

doi:10.1073/pnas.1219451110.

46. Shin N-R, Lee J-C, Lee H-Y, et al. An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut*. 2014;63(5):727-735. doi:10.1136/gutjnl-2012-303839.

47. Vinson J a, Su X, Zubik L, Bose P. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods:Fruits. *J Agric Food Chem*. 2001;49(11):5315-5321. doi:10.1021/jf0009293.

48. Due?as M, Mu?oz-Gonz?lez I, Cueva C, et al. A survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols. *Biomed Res Int*. 2015;2015(Figure 1). doi:10.1155/2015/850902.

49. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 2004;79(5):727-747. doi:10.1038/nature05488.

50. Kaulmann A, Bohn T. Bioactivity of Polyphenols: Preventive and Adjuvant Strategies toward Reducing Inflammatory Bowel Diseases - Promises, Perspectives, and Pitfalls. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016(c). doi:10.1155/2016/9346470.

51. Roopchand DE, Carmody RN, Kuhn P, et al. Dietary polyphenols promote growth of the gut bacterium akkermansia muciniphila and attenuate high-fat diet-induced metabolic syndrome. *Diabetes*. 2015;64(8):2847-2858. doi:10.2337/db14-1916.

52. Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JPE, Tognolini M, Borges G, Crozier A. Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(14):1818-1892. doi:10.1089/ars.2012.4581.

53. Cardona F, Andrés-Lacueva C, Tulipani S, Tinahones FJ, Queipo-Ortuño MI. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *J Nutr Biochem*. 2013;24(8):1415-1422.

doi:10.1016/j.jnutbio.2013.05.001.

54. Anhê FF, Roy D, Pilon G, et al. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice. *Gut*. 2015;64(6):872-883. doi:10.1136/gutjnl-2014-307142.

55. Williams AR, Krych L, Ahmad HF, et al. A polyphenol-enriched diet and Ascaris suum infection modulate mucosal immune responses and gut microbiota composition in pigs. 2017:1-21.

56. Etxeberria U, Hijona E, Aguirre L, et al. Pterostilbene-induced changes in gut microbiota composition in relation to obesity. *Mol Nutr Food Res*. 2017;61(1):1500906. doi:10.1002/mnfr.201500906.

57. Karlsson CLJ, Önnerfält J, Xu J, Molin G, Ahrné S, Thorngren-Jerneck K. The Microbiota of the Gut in Preschool Children With Normal and Excessive Body Weight. *Obesity*. 2012;20(11):2257-2261. doi:10.1038/oby.2012.110.

58. Pierre JFJF, Heneghan AFAF, Feliciano RPRP, et al. Cranberry proanthocyanidins improve the gut mucous layer morphology and function in mice receiving elemental enteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2013;37(3):401-409. doi:10.1177/0148607112463076.

59. Habitcht JP. ESTANDARIZACION DE METODOS EPlDEMlOLOGICOS CUANTITATIVOS SOBRE EL TERRENO. *Reimpr del Bo!etin la Of Sanit Panam*. 1974;76(5):375-384.

60. Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. *Hum Kinet Books*. 1988:177. doi:10.1002/ajhb.1310040323.

61. Grundy SM. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112(17):2735-2752. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.169404.

62. Hernández B, Gortmaker SL, Laird NM, Colditz GA, Parra-Cabrera S, Peterson KE. Validez y reproducibilidad de un cuestionario de actividad e inactividad fisica para escolares de la ciudad de Mexico. *Salud Publica Mex*. 2000;42(4):315-323. doi:10.1590/S0036-36342000000400006.

63. Willett W. *Nutritional Epidemiology*.; 2012. doi:10.1093/acprof:oso/9780199754038.001.0001.

Anexo I

ARTICULO

AKKERMANSIA MUSCINIPHILA Y DESORDENES METABÓLICOS EN POBLACCIÒN INFANTIL

Ilse A Gutiérrez-Pérez [(1)], Margarita Bahena-Román [(2)], Ana I Burguete-García [(2)]

[(1)] Escuela de Salud Pública de México, Maestría en Ciencias en Epidemiología clínica. Cuernavaca, Morelos, México.

[(2)] Instituto Nacional de Salud Pública, Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas. Cuernavaca, Morelos, México.

Autor correspondiente

Ana I. Burguete-García, MD, PhD.

Departamento de Epidemiología Genética, Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, México. Teléfono: 01 777 329 3000 ext. 2886. E-mail: aburguete@insp.com

Resumen

La obesidad infantil se relaciona con el desarrollo de alteraciones metabólicas, actualmente es considerada un problema de salud pública en todo el mundo. En México la obesidad ha sido declarada una emergencia epidemiológica al alcanzar el primer lugar en prevalencia. El origen de la obesidad es multifactorial, sin embargo, los patrones de alimentación continúan siendo los principales factores asociados. *Akkermansia muciniphila*, es una bacteria degradadora de mucina, su abundancia se ha relacionado positivamente con el consumo de polifenoles provenientes de la dieta, y relacionada inversamente con parámetros metabólicos en modelos animales, sin embargo, existe escasa evidencia en humanos. El **objetivo** de este estudio fue determinar si la ingesta de polifenoles y la abundancia relativa de *A. muciniphila* se asocian con la presencia de alteraciones metabólicas en población infantil. **Metodología:** Estudio transversal que incluyó 1190 niños con edades entre 6 a 14 años, radicados en la ciudad de México. A todos se les realizó un cuestionario para obtener información general. Se obtuvo una muestra sanguínea para la determinación de las concentraciones séricas de glucosa, colesterol, triglicéridos, lipoproteína de alta densidad (HDL) y lipoproteína de baja densidad (LDL), así como la recolección de heces, a partir de la cual se realizó la cuantificación de la abundancia de *A. muciniphila* mediante la técnica *qPCR*. El consumo de polifenoles se evaluó mediante un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (CFCA). **Resultados:** Este estudio evidenció que la abundancia relativa "baja" de *A. muciniphila* se relaciona con el aumento de la concentración sérica de triglicéridos y con la disminución de HDL. Por otro lado, el consumo "bajo" de polifenoles se relacionó con el aumento de triglicéridos, pero la interacción entre *A. muciniphila* y el consumo de polifenoles no fue observada. **Conclusiones:** En nuestra población de estudio se evidenció que una abundancia relativa baja de *A. muciniphila* y el bajo consumo de polifenoles se asocian de manera independiente con la alteración metabólica de los lípidos.

Palabras clave: *Akkermansia muciniphila*, polifenoles, alteraciones metabólicas, niños.

Introducción

En las últimas décadas, la prevalencia de sobrepeso (Sp) y obesidad (Ob) se ha incrementado considerablemente a nivel mundial. México ha alcanzado proporciones epidémicas ante la magnitud y trascendencia de los casos de Sp y Ob en la niñez y la adolescencia. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2016, México reporta una prevalencia combinada de Sp y Ob en niños de entre 5 y 11 años de 33.2%, (17.9% y 15.3% respectivamente). En este mismo grupo de edad las niñas presentaron una prevalencia de 20.6% para Sp y 12.2% para Ob; mientras que los niños, mostraron un 15.4% y 18.6% para Sp y Ob respectivamente, observando una prevalencia mayor de obesidad en los niños(ENSANUT 2016).

El exceso de peso en la infancia, es un factor de riesgo asociado a diversas comorbilidades desarrolladas en etapas tempranas de la vida o en la vida adulta; entre las que destacan las alteraciones metabólicas (AltMet); principalmente la hiperglucemia, dislipidemia e hipertensión, descritas ya en poblaciones de niños mexicanos (Guzmán-Guzmán *et al.* 2015; Rosas-Peralta *et al*. 2016). Recientemente se ha descrito que la obesidad combinada con una dieta desequilibrada (Lakka et al. 2002) promueve cambios en la microbiota intestinal (MI), interactuando claramente para condicionar al individuo en el desarrollo de estas alteraciones (Janssen and Kersten 2015).

Existen fuertes evidencias de que una dieta rica en polifenoles ejerce un impacto benéfico importante en la salud; a los polifenoles se le han atribuido propiedades tales como actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, antioxidante y anticancerígena (Xiao and Högger 2015; Anhê et al. 2013). Los polifenoles son componentes comunes de muchas fuentes de alimentos vegetales, como frutas, verduras, semillas, nueces, chocolate, vino, café y té; sin embargo, el tipo y contenido de polifenoles difiere entre esta diversidad de alimentos (Myburgh 2014). Además, la capacidad de absorción de los polifenoles depende de factores propios del huésped, por lo que su eficacia puede mostrar un efecto variado entre individuos.

Hallazgos recientes han sugerido que la administración de los polifenoles, podría modular la composición de la comunidad bacteriana, especialmente la abundancia relativa de *Akkermansia muciniphila*, que pertenece al filo *Verrucomicrobia* y es una bacteria degradadora de mucina que reside en la capa

de la mucosa del intestino. *A. muciniphila* representa del 2-5% de la MI de humanos sanos. Diversos estudios han reportado que la administración de compuestos fenólicos incrementa la abundancia relativa de *A. muciniphila* y además reduce la obesidad, la adiposidad y los trastornos metabólicos, así como marcadores inflamatorios, la resistencia a la insulina y mejora la barrera intestinal en ratones, contrarrestando la endotoxemia de lipopolisacáridos (LPS) inducida por una dieta alta en grasas (Everard *et al*. 2013). Existen pocos estudios de la influencia de los polifenoles en la composición y la actividad de la comunidad microbiana intestinal no patógena y no hay reportes en población infantil mexicana, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar si la ingesta de polifenoles y la abundancia relativa de *A. muciniphila* se asocian con alteraciones metabólicas en población infantil.

Métodos

Diseño y población de estudio

Se realizó un estudio transversal en 1190 niños de entre 6 a 14 años de edad residentes de la ciudad de México, reclutados entre junio de 2011 a julio de 2012. Se excluyeron a todos los niños que reportaron al momento de la entrevista presentar problemas de salud como: diabetes tipo 2, hipertensión arterial, enfermedad cardiovascular, enfermedades infecciosas, desordenes gastrointestinales y la ingesta de antibióticos en los últimos dos meses previos. El estudio incluyó una entrevista estructurada, mediciones antropométricas, toma de muestra sanguínea para la determinación del perfil metabólico y una muestra de heces para establecer la cuantificación de la abundancia relativa de expresión de *Akkermansia muciniphila*. A todos los participantes se les explico detalladamente en qué consistía el estudio y se les pidió el asentimiento por parte de los niños y firma del consentimiento informado a sus padres o tutores. La realización del estudio fue aprobada por los Comité de Ética, Bioseguridad y de Investigación del Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Morelos, México.

Determinaciones clínicas

A todos los participantes junto con alguno de los padres o tutores se les aplicó un cuestionario adaptado para esta población por personal capacitado y estandarizado. Se obtuvieron datos sociodemográficos, de hábitos dietéticos y antecedentes heredofamiliares de obesidad y diabetes.

Para la información relacionada con el consumo de polifenoles dietarios se llevó a cabo a través de un cuestionario semi-cuantitativo de frecuencia de consumo (CFCA) siguiendo la metodología referida por Willett, 2012, que consta de 107 preguntas con opciones de consumo variable entre “nunca” hasta “6 o más veces al día”. De acuerdo al consumo reportado de cada participante y la porción preestablecida se realizó el calculó promedio en gramos por día de alimentos. La información del valor nutritivo de polifenoles se obtuvo a partir de la plataforma del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA)(United States Department of Agriculture Agricultural Research Service 2016), debido a que la base de datos del valor nutritivo de los alimentos mexicanos elaborada por el Instituto Nacional de Salud Pública de México no contiene esta información. El consumo de polifenoles fue analizado utilizando el método de ajuste de energía de densidad de nutrientes, el cual se obtuvo dividiendo las calorías provenientes del consumo de polifenoles entre el consumo energético total y se multiplicó por 100.

A todos los participantes se les realizaron mediciones de peso (kg) y talla (cm) (Habicht 1974) a partir de las cuales se calculó el IMC (Índice de Masa Corporal) (peso en kg/talla en cm^2) y utilizando el Macro creado por la OMS (Organización Mundial de la Salud) se obtuvo el puntaje Z establecidos de acuerdo a la edad y sexo. Se clasifico como normopeso de -2 a 1 desviación estándar (DE), y como con sobrepeso-obesidad >1 DE considerando que tanto sobrepeso y obesidad forman parte de un mismo proceso y para fines de describir a la población de estudio (WHO 2007). El peso en kg se determinó utilizando una báscula de precisión de 0.1 kg (marca comercial SECA, Alemania) y la estatura se midió con un estadímetro portátil SECA con precisión de 1mm. La medición de la circunferencia de cintura y cadera en cm se llevó a cabo mediante una cinta antropométrica (SECA) y la presión arterial por duplicado después de al menos

5 minutos de reposo previo e inter mediciones empleando un esfigmomanómetro previamente calibrado.

Determinación de los parámetros bioquímicos

Las muestras sanguíneas fueron obtenidas a través de venopunción (5 mL) con un ayuno previo de 12 horas, utilizando el sistema vacutainer y empleando tubos al vacío con EDTA y sin anticoagulante. Se llevó a cabo la determinación sérica de las concentraciones de glucosa, colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL). La determinación se llevó a cabo en el equipo Clinical Chemistry System, ILAB 300 plus.

Cuantificación de la abundancia relativa de *A. muciniphila.*

Se recogieron muestras de heces de los participantes, a partir de las que se realizaron alícuotas de 200 mg para su posterior uso en la extracción y análisis de DNA bacteriano.

El DNA se extrajo mediante el kit QIAmp® DNA Stool (Qiagen, Hilden, North Rhine-Westohalia), posteriormente se cuantifico la concentración y pureza del DNA (260/280) en el equipo NanoDrop 1000 ThermoScientific (Saveen Werner ApS, Dinamarca) y se almacenó a una temperatura de -20°C para su posterior uso.

La amplificación de *A. muciniphila* se realizó por qPCR con las siguientes condiciones; 5µl de SYBR® Green/ROX (2X) qPCR Master Mix, 1 µL de oligonucleótido Forward y 1 µL de Reverse, 2 µL de agua libre de RNasas y DNasas, y por último 1 µL de la muestra de DNA una concentración de 5 ng/µL, obteniendo un volumen final de 10 µL para cada pozo en las placas de PCR. Cada reacción se realizó por duplicado para que la eficiencia de la amplificación tuviera un rango de error menor, además se colocó un control negativo en cada placa. Las condiciones de amplificación de qPCR, se realizaron en el equipo StepOne. Las condiciones de amplificación incluyeron un paso inicial de desnaturalización por 10 minutos a 95°C, desnaturalización por 15 segundos a 95°C, alineamiento a 58 °C (Universal) y 63 °C (*A. muciniphila*) por 15 segundos y la extensión a 95 °C por 1 minuto. Finalmente, para la curva de disociación las

condiciones fueron: 95 °C por 15 segundos, 60 °C por 1 minuto y un incremento gradual de temperatura de 0.1/0.2 °C hasta alcanzar la temperatura de 95 °C.

La amplificación específica del gen de interés se confirmó mediante curvas de disociación, corroborando que la fluorescencia respecto del tiempo (dF/dT) presentara un solo pico. Las unidades de abundancia relativa (AR) de *A.muciniphila* se obtuvieron mediante el método comparativo de $2^{-\Delta Ct(Ct\ de\ A.\ mucinipila\ -Ct\ de\ universal)}$(26).

Análisis estadístico

Las variables seleccionadas se compararon de acuerdo al estrato por género, así como a la condición de adiposidad; normopeso y sobrepeso/Obesidad. Debido a que las variables continuas no presentaron una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann Whitney (datos mostrados como medianas y percentiles 5 y 95). Para la comparación de las variables categóricas se empleó la prueba de Chi cuadrada.

Los modelos finales fueron ajustados por edad, sexo y puntaje Z-score. Las variables de antecedente heredofamiliar de obesidad y diabetes fueron otras covariables de ajuste las cuales fueron consideradas y exploradas; sin embargo, no presentaron alteraciones en el estimador por lo que fueron retiradas del modelo.

Todo el análisis se realizó utilizando la versión 14.0 del paquete estadístico Stata SE (College Station, TX). Los resultados se consideraron estadísticamente significativos cuando $p < 0.05$.

Resultados

El presente estudio incluyó 1190 niños que presentaron proporciones similares por género, la mediana de edad fue de 9 años en ambos grupos. En la Tabla 1, se muestran las características generales, bioquímico metabólicas y de dieta de acuerdo al género. En los niños, el peso, circunferencia de cintura, índice cintura cadera y presión arterial sistólica (PAS) fueron significativamente más elevadas en relación a las niñas ($p<0.001$); En cuanto a los parámetros bioquímicos los niños se caracterizaron por tener mayores concentraciones de glucosa (84 vs 80 mg/dL, $p=0.001$); sin embargo, en las niñas las concentraciones de triglicéridos

fueron mayores (86 vs 77 mg/dL, *p*=0.001) y las de HDL fueron menores (49 vs 52 mg/dL). En cuanto al consumo de polifenoles no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos (tabla 1). La prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en esta población fue de 52.7%, afectando en mayor proporción al género masculino. Por otro lado se muestra que los individuos que presentan sobrepeso u obesidad, presentan evidentemente mayores perímetros corporales, así como PAS y la presión arterial diastólica (PAD) (Tabla 2). Los antecedentes heredofamiliares de obesidad, también fueron más frecuentes en aquellos niños con exceso de peso en comparación con los de peso normal (61.1% vs 47.3%, *p*<0.001). Las concentraciones de los parámetros metabólicos también fueron más elevadas en niños con exceso de peso (Sp y Ob); glucosa (82.5 vs 81 mg/dL, *p*<0.001), colesterol total (161 vs 153 mg/dL, *p*<0.001) triglicéridos (98.5 vs 69 mg/dL, *p*<0.001), LDL (106 vs 96, *p*<0.001) y menor HDL (47.5 vs 53, *p*<0.001). Sin embargo, por estratos de adiposidad no se observaron diferencias en la abundancia relativa de *A. muciniphila.*

La abundancia relativa se estratifico en terciles, considerando el tercil inferior como “baja” abundancia relativa y los terciles dos y tres como abundancia “normal/alta”. Los individuos con baja abundancia relativa de *A. muciniphila*, mostraron mayores concentraciones de triglicéridos (82 vs 76.5 mg/dL p=0.20) y disminución de HDL (50 vs 51, *p*=0.25 mg/dL) (Tabla 3).

Con respecto al consumo de polifenoles y su relación con las características metabólicas, se observó una tendencia entre el bajo consumo de estos y las concentraciones más elevadas de colesterol (159 vs 156 mg/dL, *p*=0.63), triglicéridos (82 vs 79.5 mg/dL, *p*=0.64) y LDL (102 vs 99 mg/dL, *p*=0.23), así como menores niveles de HDL (50 vs 50.5 mg/dL, *p*=0.24) (Tabla 4).

En el modelo de regresión logística ajustando por edad, sexo y z-score de IMC, se observó que la abundancia relativa baja de *A. muciniphila* se asocia con un incremento promedio en 6 mg/dL de triglicéridos; pero con una disminución promedio en las concentraciones de HDL de 2.08 mg/dL respecto a los niños que presentan una abundancia relativa “alta” de *A. muciniphila* (*p*=0.002 y *p*=0.01, respectivamente) (tabla 5).

Al explorar la asociación además del consumo de polifenoles totales y las alteraciones metabólicas no se observan diferencias estadísticamente significativas; sin embargo, de se evidenció que el consumo bajo de polifenoles, se asocia de manera marginal con un incremento promedio de 3.8 mg/dL en las concentraciones de colesterol total (p=0.05). (Tabla 5). De manera similar se evidenció, además de manera similar que el consumo bajo de específicamente dos tipos de polifenoles (antocianidinas y flavon3oles) se asocian con el incremento de las concentraciones de triglicéridos (p=0.02 y p=0.03 respectivamente) (Figura 1).

Discusión

Se ha evidenciado en modelos animales y en población adulta que la abundancia relativa de *A. muciniphila* se ve disminuida en presencia de obesidad, diabetes tipo 2, enfermedades intestinales, hipertensión y enfermedades hepáticas (Anhê *et al*. 2016; Schneeberger et al. 2015;). *A. muciniphila* es una bacteria degradadora de mucina que se encuentra comúnmente en el tracto gastrointestinal a la que se le han atribuido propiedades benéficas en el huésped (Derrien et al. 2010).

La obesidad y las alteraciones metabólicas son en la actualidad un problema de salud pública en población infantil, sin embargo, pocos estudios han centrado su atención en la disbiosis de la microbiota en este grupo poblacional. En el presente estudio que incluyó niños en edad escolar se evidencio la relación entre la abundancia relativa de *A. muciniphila* y la presencia de alteración en el perfil lipídico (triglicéridos elevados/ HDL disminuido) independientemente del género y el grado de adiposidad. David *et al*. 2014 evidenciaron en niños de origen sueco que la abundancia relativa de *A. muciniphila* disminuyó en presencia de sobrepeso u obesidad (p=0.030) (Karlsson et al. 2012). La diferencia entre estos estudios podría atribuirse a la edad de los niños incluidos, el tamaño de muestra (N= 40), así como a la variabilidad en los hábitos dietéticos entre poblaciones. En población adulta francesa Dao *et al*. reportaron que los sujetos con mayor abundancia relativa de *A. muciniphila* mostraron un estado metabólico más saludable, particularmente en las concentraciones de glucosa, triglicéridos y la distribución de grasa corporal después de una restricción calórica de 6 semanas.

De manera similar Shen *et al*. 2016 realizaron un estudio en ratones de 12 semanas de edad, encontrando que la administración de *A. muciniphila* (2×10^8 UFC) disminuye las concentraciones de triglicéridos y colesterol de manera significativa en comparación con el grupo control, sugiriendo que una mayor colonización de *A. muciniphila* en el intestino, reduce la endoxemia metabólica y contribuye al mantenimiento de la homeostasis metabólica de los lípidos en el huésped.

Se ha sugerido que *A. muciniphila* reduce la expresión de varias citocinas y moléculas de adhesión como MCP-1, TNFα e ICAM-1, junto con una menor infiltración aórtica de macrófagos y una disminución de la lesión aterosclerótica y que *A. muciniphila* no tiene efecto sobre la hipercolesterolemia inducida por una dieta occidental y alteraciones en otros perfiles metabólicos, lo que sugiere que el efecto antiaterosclerótico de *A. muciniphila* se atribuye principalmente a su actividad antiinflamatoria (Li *et al*. 2016). Esta noción es consistente con estudios recientes que muestran que la suplementación con *A. muciniphila* en ratones obesos redujo la expresión de IL-6 e IL-1β y aumentó el porcentaje de células T reguladoras en el tejido adiposo visceral. En el presente estudio se observó el aumento en las concetraciones de los triglicéridos y la disminución de la HDL (que en población adulta constituye un índice de riesgo aterogénico bien determinado), además de una baja abundancia relativa de *A. muciniphila.* Este resultado sugiere un papel importante en el desarrollo no sólo de alteraciones metabólicas, si no también de las comorbilidades asociadas.

Por otra parte, se observó una asociación entre el consumo bajo de polifenoles; específicamente de antocinidinas y flavon3oles y las concentraciones elevadas de triglicéridos. Estos compuestos fenólicos cumplen una amplia gama de actividades biológicas, incluidas antioxidantes, antiinflamatorios, antiaterogenica y actividades antihiperglucémicas. Reducen significativamente la obesidad y la acumulación de grasa en el tejido adiposo visceral, mejoran el metabolismo de los triglicéridos aumentando la actividad de la lipoproteína lipasa en el músculo esquelético y reduciéndola en el tejido adiposo visceral (Mena et al. 2014).

Los estudios en adultos con hiperlipidemia han indicado que las antocianinas se absorben rápidamente, apareciendo en el torrente sanguíneo unos minutos

después de su consumo y sugieren que los extractos ricos en antocianinas ejercen un efecto significativo sobre el perfil lipídico disminuyendo el colesterol total, LDL, y los triglicéridos. Sin embargo, diversos estudios muestran tendencias beneficas menos consistentes (muchas no significativas) para el colesterol total y HDL entre las personas con hiperlipidemia.

El mecanismo identificado de las antocinidinas y los flavon3oles y su efecto en la reducción de lípidos se encuentra en la regulación transcripcional del metabolismo lipídico de los adipocitos. La activación de diversas proteínas como LXRα (Receptor X alfa), PPARγ (Receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma), C/EBPα (proteínas de unión a la caja CCAAT) y SREBP-1c (proteína 1 de unión a elementos reguladores de esteroles) aumentan la expresión de genes lipogénicos y específicos de adipocitos *in vitro* e *in vivo*. En células 3T3-L1 se evidencio una reducción dependiente de la dosis de estos compuestos fenólicos en la expresión de estos factores transcripcionales implicados (p <0,05) en comparación con el grupo control, sugiriendo que la expresión de los factores de transcripción lipogénicos son inhibidos ampliamente, contribuyendo a una reducción de la acumulación de triglicéridos en los adipocitos. (Lee et al. 2014). Además, dos estudios recientemente publicados por Asgary *et al*, han mostrado una reducción de un estado proinflamatorio en sujetos dislipidémicos e hipertensos después del consumo de alimentos que contienen antocianinas. La suplementación de jugo de granada a 21 adultos hipertensos durante 2 semanas resultó en la reducción de los niveles séricos de VCAM-1, mientras que no se observó un efecto significativo en ICAM-1, hs-CRP, parámetros del perfil lipídico, apolipoproteínas e IL-6. Por otra parte la suplementación con bayas de Cornel (*Cornus mas*L.) en 40 niños y adolescentes dislipémicos durante 6 semanas disminuyeron los niveles séricos de la proteína de adhesión celular VCAM-1, apolipoproteína B, colesterol total, triglicéridos totales y colesterol LDL y aumentaron los niveles de colesterol HDL y apolipoproteína A-I en el grupo tratado con respecto al grupo control; sin embargo, los datos no fueron significativamente diferentes entre el grupo tratado y el grupo control al final de la intervención de 6 semanas. Lo que respalda el hallazgo del presente estudio, que refiere que un bajo consumo de antocianinas se relaciona con el incremento en los niveles de triglicéridos. Los polifenoles reducen las formas solubles de P-selectina y la molécula de adhesión intercelular

(ICAM), dos moléculas clave en la fisiopatología de la enfermedad cardiovascular.

Por otra parte, el consumo de polifenoles y la asociación con la abundancia relativa de *A. muciniphila* se ha estudiado recientemente, sin embargo, el efecto de los polifenoles sobre la modulación de la microbiota intestinal y la relación bidireccional "polifenoles/microbiota" aún son poco conocidas(Cardona et al. 2013). Nuestros resultados demostraron la falta de una interacción entre el consumo de polifenoles dietarios y la abundancia relativa de *A. muciniphila* sobre las alteraciones metabólicas. Sin embrago, los resultados observados en este estudio deben tomarse con cautela y considerarse las cuestiones metodológicas empleadas.

Por diseño del estudio no es posible establecer causalidad, sin embargo, es poco probable que las asociaciones se deban a causalidad reversa, debido a que la estimación del consumo de polifenoles en la dieta fue realizado a partir de un cuestionario de frecuencia de consumo favoreciendo un potencial error de medición. Sin embargo, este sería no diferencial ya que las mediciones realizadas fueron hechas por personal capacitado con técnicas de medición estandarizada y los cuales estuvieron cegados a los objetivos e hipótesis del estudio por lo que podrían ser resultados subestimados.

Las fortalezas en este estudio es que se utilizó el método de qPCR para la determinación de la abundancia relativa de *A. muciniphila,* un método estándar de referencia. Se necesita trabajo adicional para cuantificar objetivamente las concentraciones de polifenoles en los individuos.

Conclusión

Nuestros resultados sugieren que en población infantil la abundancia relativa baja de *A. muciniphila* se asocia significativamente con mayores concentraciones de triglicéridos y con menores concentraciones de HDL, así como también que el bajo consumo de polifenoles dietarios; específicamente de antocinidinas y flavon3oles se asocia significativamente con mayores concentraciones de triglicéridos. Sin embargo, es necesario respaldar este resultado con la realización de otros estudios, evaluando el consumo de polifenoles a través de métodos cuantitativos que permitan su medición de manera más objetiva. Además, es importante alentar a los padres de niños en edad escolar con sobrepeso y obesos a adoptar estilos de vida saludables que

incluyan nutrimentos como los polifenoles, a fin de mejorar los parámetros metabólicos e impactar positivamente en la salud durante la niñez y la vida adulta.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias a la participación de los niños de la Ciudad de México y al apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología que durante el período que curso la maestría en ciencias en epidemiología la Q.B.P Ilse Adriana Gutiérrez Pérez fue beneficiado con la beca No.777349.

TABLAS

Tabla 1. Características generales de la población de estudio por género.

Características	Total n= 1190 (100%)	niños n= 654 (54.96%)	niñas n= 536 (45.04%)	Valor P
Edad	9.4 (6.58-13)	9.6 (6.5-13.1)	9.2 (6.5-12.9)	**<0.001**
Peso	34.9 (20.8-62.9)	35.7 (21.3-65.6)	34.4 (20-61.7)	**0.02**
IMC (n %)				
Normopeso	47.31	44.19	51.12	**0.01**
Sp/Ob	52.69	55.81	48.88	
CC	64.9 (51.9- 88.6)	65.7 (51.9-90.6)	64.2 (49.9-87.1)	**0.005**
CCa	76.9 (61.3-98.9)	77.2 (61.9-97.9)	76.7 (60.6-99.1)	0.36
ICC	0.85 (0.77-0.96)	0.85 (0.78-0-97)	0.84 (0.75-0.94)	**<0.001**
PAS (mmHg)	100 (80-118)	100 (80-119)	98 (80-115)	**0.001**
PAD (mmHg)	67.5 (50-80)	67.5 (51-80)	65 (50-80)	0.48
Características Metabólicas				
Glucosa (mg/dL)	82 (67-98)	84 (69-99)	80 (66-96)	**<0.001**
Colesterol total (mg/dL)	158 (108-215)	158 (107-216)	158 (110-214)	0.64
Triglicéridos (mg/dL)	81 (43-196)	77 (39-1829)	86 (47-201)	**<0.001**
HDL (mg/dL)	50 (32-75)	52 (33-77)	49 (30-71)	**<0.001**
LDL (mg/dL)	101 (64-149)	100 (62-153)	104 (68-149)	0.08
UAR *A. muciniphila*	0.2 (1.08^{-6} -11.52)	.03 (2.8^{-6} -10.66)	0.03 (6.51^{-6} -12.64)	0.84
Micronutrimentos				
Polifenoles totales(mg/día)	62.37 (23.82-169.9)	61.4 (23.2-160.02)	64.4 (24.9- 174.05)	0.29
Flavonoles (mg/día)	5.21 (2.5-10.6)	5.1 (2.5-10.4)	5.2 (2.5-10.6)	0.44
Flavonas (mg/día)	0.27(0.09-0.66)	0.26(0.09-0.65)	0.27(0.99-0.72)	0.15
Flavan3oles (mg/día)	7.8(2.4-19.4)	7.8(2.3-20.3)	7.7(2.6-18.8)	0.97
Flavanonas (mg/día)	25.5 (5.3-90.7)	25.9 (5.3-88.02)	25.3 (5.1- 92.4)	0.28
Antocianidinas (mg/día)	19.2 (6.3-69.1)	19.1 (6.34-68.1)	192 (6.3-69.97)	0.61
Isoflavonas (mg/día)	0.46 (0 .19- 2.05)	0.48 (0.19- 1.98)	0.44(0.19- 2.12)	0.12

IMC: índice masa corporal; Sp: sobrepeso; Ob: obesidad; CC: circunferencia de cintura; CCa: circunferencia de cadera; ICC: índice cintura-cadera; PAS: presión arterial sistólica; PAD presión arterial diastólica; HDL: lipoproteínas de alta densidad; LDL: Lipoproteínas de baja densidad; UAR: unidades de abundancia relativa de *A. muciniphila*. Datos mostrados en n y porcentaje y mediana (percentil 5- percentil 95). Valor de p <0.05 considerado estadísticamente significativo. Prueba de U de Mann-Whitney para variables continuas y Chi2 de Pearson para variables categóricas.

Tabla 2. Características clínico-metabólicas por estratos de adiposidad.

Características	Peso normal n= 563 (47.31%)	Sp/Ob n= 627 (52.69%)	Valor P
Edad	9 (6-13)	9 (7-13)	**<0.001**
Género			
Masculino	290 (44.01)	369 (55.99)	**0.01**
Femenino	275 (51.12)	263 (48.88)	
Talla (cm)	1.31 (1.16-1.58)	1.39 (1.21-1.6)	**<0.001**
CC (cm)	57 (49.5-69.2)	73.8 (59.7-92.6)	**<0.001**
CCA (cm)	69.6 (59.8-86.5)	84.05 (69.8-102.1)	**<0.001**
ICC	0.82 (0.75-0.89)	0.88 (0.79-0.98)	**<0.001**
PAS (mmHg)	95 (80-112)	100 (83-120)	**<0.001**
PAD (mmHg)	64 (50-77.5)	70 (55-80)	**<0.001**
Características Metabólicas			
Glucosa (mg/dL)	81 (66-98)	82.5 (68-98)	**0.014**
Colesterol total (mg/dL)	153 (107-208)	161 (109-129)	**0.001**
Triglicéridos (mg/dL)	69 (40-129)	98.5 (48-217)	**<0.001**
HDL (mg/dL)	53 (36-77)	47.5 (30-69)	**<0.001**
LDL (mg/dL)	96 (63-142)	106 (68-156)	**<0.001**
UAR *A. muciniphila*	.03 (2.8-6 -10.66)	0.03 (6.51^{-6} -12.64)	0.84
Características familiares			
AHFDT2	58 (10.3)	86 (13.6)	0.07
AHFPA	101 (17.9)	101 (15.9)	0.37
AHFO	267 (47.3)	386 (61.1)	**<0.001**

Sp: sobrepeso; Ob: obesidad; CC: circunferencia de cintura; CCA: circunferencia de cadera; ICC: índice cintura-cadera; PAS: presión arterial sistólica; PAD presión arterial diastólica; HDL: lipoproteínas de alta densidad; LDL: Lipoproteínas de baja densidad; UAR: unidades de abundancia relativa de *A. muciniphila*. Datos mostrados en n y porcentaje y mediana (percentil 5- percentil 95). Valor de p <0.05 considerado estadísticamente significativo. Prueba de U de Mann-Whitney para variables continuas y Chi2 de Pearson para variables categóricas.

Tabla 3. Características metabólicas por estrato de AR de *A. muciniphila* Alta/Baja

	Abundancia relativa de *A. muciniphila*		
Características metabólicas	Alta	Baja	Valor *p*
Glucosa (mg/dL)	82 (68-99)	82 (67-98)	0.63
Colesterol total (mg/dL)	158 (107-210)	158 (108-217)	0.63
Triglicéridos (mg/dL)	76.5 (40-173)	82 (44-199)	**0.020**
HDL (mg/dL)	51 (33-77)	50 (31-74)	**0.025**
LDL (mg/dL)	100 (65-147)	101.5 (64-151)	0.96

HDL: Lipoproteínas de alta densidad; LDL: Lipoproteínas de baja densidad. Datos mostrados mediana (percentil 5- percentil 95). Valor de p<0.05 considerado estadísticamente significativo. Prueba de U de Mann-Whitney para variables continuas.

Tabla 4. Características metabólicas por estrato de consumo de polifenoles.

	Consumo de polifenoles (gr/día)		
Características Metabólicas	Alto	Bajo	Valor *p*
Glucosa (mg/dL)	82 (68-98)	82 (67-98)	0.63
Colesterol total (mg/dL)	156 (108-209)	159 (108-219)	0.63
Triglicéridos (mg/dL)	79.5 (41-182)	82 (44-197)	0.64
HDL (mg/dL)	50 (32-74)	50.5 (32-75)	0.24
LDL (mg/dL)	99 (64-147)	102 (65-154)	0.23
UAR *A. muciniphila*	0.02 (2.9^{-6} -11.4)	0.03 (4.1^{-6} -12)	0.47

HDL: Lipoproteínas de alta densidad; LDL: Lipoproteínas de baja densidad. Datos mostrados mediana (percentil 5- percentil 95). Valor de p <0.05 considerado estadísticamente significativo. Prueba de U de Mann-Whitney para variables continuas.

Tabla 5. Asociación entre las unidades de abundancia relativa de *A. muciniphila* y consumo de polifenoles con parámetros metabólicos.

Características metabólicas	UAR baja A. muciniphila			Consumo bajo de Polifenoles totales mg/dL		
	Coef	***p***	**IC 95%**	**Coef**	***p***	**IC 95%**
Glucosa mg/dL	-0.542	0.37	(-1.7, 0.6)	0.19	0.72	(-.90, 1.29)
Colesterol total mg/dL	-0.515	0.81	(-4.8, 3.8)	**3.89**	**0.05**	(-0.08, 7.8)
Triglicéridos mg/dL	**6.318**	**0.02**	(0.8, 11.7)	2.69	0.28	(2.3, 7.6)
HDL mg/dL	**-2.080**	**0.01**	(-3.7, -0.4)	0.60	0.41	(-0.85, 2.06)
LDL mg/dL	0.199	0.90	(-3.2 , 3.6)	2.64	0.09	(-0.4, 5.79)

Modelo Ajustado por edad, sexo e IMC.
HDL: Lipoproteínas de alta densidad; LDL: Lipoproteínas de baja densidad.). Valor de *p*<0.05 considerado estadísticamente significativo.

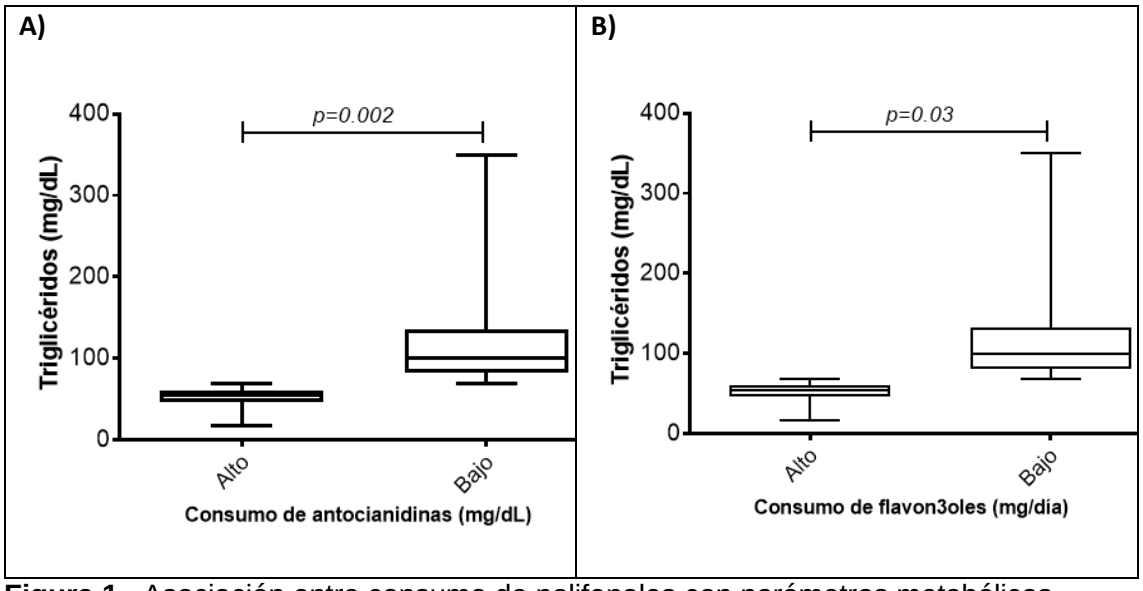


Figura 1. Asociación entre consumo de polifenoles con parámetros metabólicos. Modelo Ajustado por edad, sexo e IMC

Bibliografía

Anhê, Fernando F. et al. 2016. “Triggering Akkermansia with Dietary Polyphenols: A New Weapon to Combat the Metabolic Syndrome?” *Gut microbes* 7(2): 146–53.

Anhê, Fernando F. et al. 2013. “Polyphenols and Type 2 Diabetes: A Prospective Review.” *PharmaNutrition* 1(4): 105–14.

Cardona, Fernando et al. 2013. “Benefits of Polyphenols on Gut Microbiota and Implications in Human Health.” *Journal of Nutritional Biochemistry* 24(8): 1415–22. http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.05.001.

Dao, M C et al. 2016. “Akkermansia Muciniphila and Improved Metabolic Health during a Dietary Intervention in Obesity: Relationship with Gut Microbiome Richness and Ecology.” *Gut* 65(3): 426–36. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26100928.

David, Lawrence A. et al. 2014. “Diet Rapidly and Reproducibly Alters the Human Gut Microbiome.” *Nature* 505(7484): 559–63.

Derrien, Muriel et al. 2010. “Mucin-Bacterial Interactions in the Human Oral Cavity and Digestive Tract.” *Gut Microbes* 1(4): 254–68.

ENSANUT. 2016. “Encuesta Nacional de Salud Y Nutrición de Medio Camino 2016, Informe Final de Resultados.” *Instituto Nacional de Salud Pública* 2016: 151. http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/encuestas/resultados/ENSANUT.pdf.

Everard, A et al. 2013. “Cross-Talk between Akkermansia Muciniphila and Intestinal Epithelium Controls Diet-Induced Obesity.” *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(22): 9066–71. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23671105.

Guzmán-Guzmán, Iris Paola et al. 2015. “Prevalencia de Síndrome Metabólico En Niños Con Obesidad Y Sin Ella.” *Medicina Clínica* 144(5): 198–203.

Habicht, Jean-Pierre. 1974. “Estandarización de Métodos Epidemiológicos Cuantitativos Sobre El Terreno.” *Oficina Sanitaria Panamericana* LXXV(5): 375–84.

Janssen, Aafke W F, and Sander Kersten. 2015. “The Role of the Gut Microbiota in Metabolic Health.” *FASEB Journal* 29(8): 3111–23.

Karlsson, Caroline L.J. et al. 2012. “The Microbiota of the Gut in Preschool Children With Normal and Excessive Body Weight.” *Obesity* 20(11): 2257–

61. http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2012.110.

Lakka, Hanna-Maaria et al. 2002. “The Metabolic Syndrome and Total and Cardiovascular Disease Mortality in Middle-Aged Men.” *JAMA : the journal of the American Medical Association* 288(21): 2709–16.

Lee, Bonggi, Minsup Lee, Michael Lefevre, and Hyeung Rak Kim. 2014. “Anthocyanins Inhibit Lipogenesis During Adipocyte Differentiation of 3T3-L1 Preadipocytes.” *Plant Foods for Human Nutrition* 69(2): 137–41.

Li, Jin et al. 2016. “Akkermansia Muciniphila Protects against Atherosclerosis by Preventing Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in Apoe-/- Mice.” *Circulation* 133(24): 2434–46.

Mena, Pedro et al. 2014. “Flavan-3-Ols, Anthocyanins, and Inflammation.” *IUBMB Life* 66(11): 745–58.

Myburgh, Kathryn H. 2014. “Polyphenol Supplementation: Benefits for Exercise Performance or Oxidative Stress?” *Sports Medicine* 44(SUPPL.1).

Rosas-Peralta, Martin et al. 2016. “[Systemic Arterial Hypertension in Child and Adolescent].” *Hipertension arterial sistemica en el nino y adolescente.* 54 Suppl 1: s52-66. http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med8&NEWS=N&AN=27284843.

Schneeberger, Marc et al. 2015. “Akkermansia Muciniphila Inversely Correlates with the Onset of Inflammation, Altered Adipose Tissue Metabolism and Metabolic Disorders during Obesity in Mice.” *Scientific reports* 5(October): 16643. http://www.nature.com/srep/2015/151113/srep16643/full/srep16643.html.

Shen, Jing et al. 2016. “Low-Density Lipoprotein Receptor Signaling Mediates the Triglyceride-Lowering Action of Akkermansia Muciniphila in Genetic-Induced Hyperlipidemia.” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 36(7): 1448–56.

United States Department of Agriculture Agricultural Research Service. 2016. “Food Composition Databases Show Foods.” *USDA Branded Food Products Database*. https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/144936?fgcd=&manu=&lfacet=&format=&count=&max=50&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=microgreens&ds=&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=.

WHO. 2007. “Growth Reference 5-19 Years.” *World Health Organization*.

Willett, Walter. 2012. Monographs in Epidemiology and Biostatistics *Nutritional Epidemiology*. http://www.oxfordscholarship.com/view/10.1093/acprof:oso/9780199754038.001.0001/acprof-9780199754038.

Xiao, Jianbo, and Petra Högger. 2015. “Dietary Polyphenols and Type 2 Diabetes : Current Insights and Future Perspectives.” *Current medicinal chemistry* 22(1): 23–38.