



Original/*Obesidad*

# La obesidad infantil como consecuencia de la interacción entre firmicutes y el consumo de alimentos con alto contenido energético

Barbara Ixchel Estrada-Velasco<sup>1</sup>, Miguel Cruz<sup>2</sup>, Jaime García-Mena<sup>3</sup>, Adan Valladares Salgado<sup>2</sup>, Jesus Peralta Romero<sup>2</sup>, Maria de los Remedios Guna Serrano<sup>4</sup>, Vicente Madrid-Marina<sup>1</sup>, Citlalli Orbe Orihuela<sup>1</sup>, Claudia López Islas<sup>1</sup> y Ana Isabel Burguete-García<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de investigación sobre enfermedades infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Mor., México.

<sup>2</sup>Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades, IMSS, CMN Siglo XXI, Ciudad de México, México.

<sup>3</sup>Departamento de Genética y Biología Molecular, Cinvestav-IPN, México, DF, Mexico. <sup>4</sup>Servicio de Microbiología, Hospital General Universitario y Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, España.

## Resumen

**Introducción:** La obesidad es un grave problema de salud pública en México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2012) reporta una prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños de 5 a 11 años de 34.4%, siendo el país con mayor prevalencia a nivel mundial. Investigaciones recientes han sugerido que la microbiota intestinal puede ser factor de riesgo de la obesidad por su influencia en el metabolismo humano.

**Objetivo:** Evaluar si existe asociación entre el perfil de la microbiota intestinal y la obesidad infantil y si esta asociación se modifica dependiendo del patrón de alimentación de una muestra de niños de edad escolar de la Ciudad de México.

**Metodología y Resultados:** Estudio transversal en 1042 niños de 6 a 14 años, a todos se les aplicó cuestionario de actividad física, antecedentes patológicos personales y heredofamiliares de obesidad y diabetes tipo 2. La definición de los patrones de alimentación se realizó por análisis de componentes principales (ACP). La asociación entre microbiota intestinal y sobrepeso/obesidad dependiendo de la dieta se evaluó con modelos de regresión logística, ajustados por factores de confusión. Encontramos que un perfil de abundancia relativa alta de Firmicutes y una abundancia relativa baja de Bacteroidetes aunado a un consumo elevado de dietas ricas en carbohidratos y grasas saturadas se asocia con un mayor riesgo de obesidad.

**Conclusión:** La interacción entre la microbiota intestinal y la dieta, particularmente con alto contenido de grasas y carbohidratos simples incrementa las posibilidades de presentar obesidad.

(Nutr Hosp. 2015;31:1074-1081)

DOI:10.3305/nh.2015.31.3.8302

Palabras clave: *Microbiota intestinal. Obesidad infantil. IMC. Patrones de alimentación. Firmicutes.*

**Correspondencia:** AI. Burguete-García  
Instituto Nacional de Salud Pública.  
Av. Universidad 655, Santa María Ahuacatitlán Cuernavaca,  
México. C.P.62508.  
E-mail: aburguete@correo.insp.mx

Recibido: 29-X-2014.  
Aceptado: 16-XII-2014.

## CHILDHOOD OBESITY IS ASSOCIATED TO THE INTERACTION BETWEEN FIRMICUTES AND HIGH ENERGY FOOD CONSUMPTION

### Abstract

**Introduction:** Obesity is a serious public health problem in Mexico, the National Health and Nutrition Survey (ENSANUT 2012) reported a 34.4% prevalence of overweight, and obesity in children aged 5-11. Recent research has suggested that the gut microbiota may be a risk factor of obesity through its influence on human metabolism.

**Aim of the study:** To evaluate association between the intestinal microbiota profile and obesity among children and whether this association is modified depending on the feeding pattern of a sample of schoolchildren from Mexico City.

**Methodology and Results:** Cross-sectional study on 1042 children aged 6-14 years; physical activity questionnaire, personal medical history and heredofamilial of obesity and type 2 diabetes were administered to all the children. Eating patterns was performed by principal component analysis (PCA). The association between intestinal microbiota and overweight / obesity depending on diet was assessed with logistic regression models.

**Conclusion:** Our results shows that the interaction between the intestinal microbiota and diet, particularly high in fats and simple carbohydrates increases the chance of developing obesity.

(Nutr Hosp. 2015;31:1074-1081)

DOI:10.3305/nh.2015.31.3.8302

Key words: *Gut Microbiota. Childhood obesity. BMI. Dietary patterns. Firmicutes.*

## Introducción

La obesidad se ha convertido en un problema de salud pública en todo el mundo considerada actualmente como pandemia<sup>1,2,3</sup>. En México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2012)<sup>4</sup> reporta una prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños de 5 a 11 años de 34.4%, siendo el país con mayor prevalencia a nivel mundial. La obesidad es una enfermedad crónica y multifactorial, caracterizada por desórdenes metabólicos, inflamación de bajo grado y aumento de la grasa corporal, cuya magnitud y distribución condicionan la salud del individuo. Es el principal factor de riesgo para diferentes enfermedades crónicas, incluyendo diabetes, enfermedades cardiovasculares y cáncer<sup>5</sup>. Los factores de riesgo de la obesidad infantil incluyen la dieta, antecedentes de obesidad en padres, y disminución de la actividad física<sup>6</sup>. El papel de la dieta en la etiología de la mayoría de las enfermedades no transmisibles está bien establecido. Los patrones de alimentación varían considerablemente entre las poblaciones, los individuos, grupos de edad y las clases sociales y culturales<sup>7</sup>.

La microbiota humana consiste en alrededor de 10 a 100 billones de microorganismos, representando al menos 10 veces más el número de células humanas. La microbiota y su microbioma nos proveen de importantes funciones biológicas, inmunológicas y metabólicas que no pueden ser realizadas por el metabolismo humano como síntesis de aminoácidos esenciales y vitaminas y la digestión de componentes de la dieta como polisacáridos de estructurales<sup>8,9,10,11,12</sup>. En el interior del intestino se han descrito alrededor de 70 divisiones de bacterias, siendo los más frecuentes dos filos bacterianos específicos: Bacteroidetes y Firmicutes, que incluyen cientos de filotipos<sup>9</sup>.

Investigaciones recientes han sugerido que la microbiota intestinal puede ser factor importante que participa como mediador de la obesidad ya que puede incrementar la habilidad del hospedero para conseguir calorías de la dieta mediante la estimulación de la absorción de grasas y su capacidad de digerir carbohidratos no digeribles por nuestro organismo<sup>13,14</sup>. Así mismo se ha sugerido que interviene en la modulación de la inmunidad del hospedero, y a la inflamación asociada con la obesidad en ratones<sup>15</sup>. También se ha reportado que diferencias en el consumo de macronutrientes debido a dietas con alto contenido de proteínas y grasas o con bajo contenido de carbohidratos puede alterar la composición de la microbiota intestinal<sup>14,16,17</sup>. Sin embargo aún no están totalmente claros los mecanismos mediante los cuales la microbiota intestinal humana interactúa con el hospedero y con su patrón de alimentación, y de esta manera estar asociado con la obesidad.

El objetivo de este estudio fue evaluar si existe asociación entre el perfil de la microbiota intestinal y la obesidad infantil y si esta asociación se modifica dependiendo del patrón de alimentación de una muestra de niños de edad escolar de la Ciudad de México.

## Metodología

### *Diseño y población*

Estudio transversal a partir del banco de muestras biológicas y base de datos generados en el proyecto “Genética de la obesidad en la infancia y la adolescencia” llevado a cabo en conjunto por el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) y la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, con registro 2006-785-072 por la Comisión Nacional de Investigación del IMSS.

### *Criterios de selección*

Seleccionamos 1119 niños de 6 a 14 años de edad, no relacionados, residentes de 4 zonas geográficas de la Ciudad de México (Norte, Sur, Oriente y Poniente). Se excluyeron a los niños con diagnóstico de enfermedad infecciosa y/o desórdenes gastrointestinales al momento de la entrevista y a los que hubieran tomado antibióticos durante dos meses previos al estudio. Los niños y padres de familia que aceptaron participar firmaron un asentimiento y consentimiento informado respectivamente. Se aplicó un cuestionario de 18 preguntas a través del cual se obtuvieron datos socioeconómicos, demográficos, antecedentes patológicos personales y heredofamiliares. También contestaron un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos previamente validado compuesto por 107 preguntas y un cuestionario de actividad física y sedentarismo de 40 preguntas. Posteriormente se colectaron muestras de sangre venosa y muestras de heces. Se eliminaron del estudio a los niños que no cumplieran con todos los cuestionarios y/o muestras completas resultando una muestra final de 1042 niños.

### *Mediciones bioquímicas y antropométricas*

Las muestras de sangre se tomaron en ayuno de 12h. Se midieron los niveles de glucosa, colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos e insulina (Equipo Clinical Chemistry System ILAB 300 plus®). Los perfiles bioquímicos se determinaron de acuerdo con los criterios de la American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute Scientific Statement (AHA/NHLBI)<sup>18</sup>.

Las medidas antropométricas evaluadas por personal estandarizado fueron: peso (kg) (báscula con precisión de 0.1kg, marca SECA, Alemania) talla (cm) medida con un estadímetro portátil SECA, índice de masa corporal (IMC, kg/m<sup>2</sup>) y circunferencia de cintura (cm). Se eliminaron 3 niños sin datos antropométricos. La clasificación de los niños en peso normal, sobrepeso y obesidad se realizó con base en el puntaje z de IMC para edad y sexo, de acuerdo con las referencias de la OMS<sup>19</sup>; con los siguientes puntos de corte:

Normal de -2 a 1 DE, Sobrepeso de 1 a 2 DE y Obesidad >2 DE. Las presiones sistólica y diastólica se midieron con esfigmomanómetros calibrados después de estar sentado en reposo durante al menos 5 minutos. Se realizaron dos mediciones para obtener un promedio.

### Caracterización de la microbiota

La extracción de los ácidos nucleicos se llevó a cabo con el kit QIAamp® DNA Stool Mini Kit for human (Qiagen, Alemania), a partir de 200 mg de heces. Se determinó la concentración y pureza del DNA con un espectrofotómetro NanoDrop 1000 Thermo Scientific (Saveen Werner ApS, Dinamarca). El análisis del perfil de microbiota se realizó por qPCR utilizando primers universales y específicos para los filos Bacteroidetes y Firmicutes (Fig. 1)<sup>20</sup>. Cada reacción de PCR tuvo 5 µl de Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2x) (Fermentas®), 1 µl de cada primer (concentración de 5pmol para Reverse y 10pmol para Forward), 1 µl del templado de DNA y 2 µl de agua libre de ácidos nucleicos (Fermentas®) teniendo un volumen final de 10 µl. Cada reacción se realizó por duplicado.

El análisis de las amplificaciones de PCR en tiempo real se llevó a cabo en el equipo Step One Plus realtime PCR system (Applied Biosystems, E.U.), las muestras se procesaron en placas de 96 pozos y con las siguientes condiciones de amplificación: un ciclado térmico de 5 minutos a 95°C, desnaturalización a 95°C por 15 segundos, 30 ciclos a 59°C por 15 segundos para alineamiento y por 20 segundos a 72°C para elongación; las condiciones fueron las mismas para los 3 pares de primers utilizados; Universal, Bacteroidetes y Firmicutes.

Los resultados de las reacciones se observaron en las gráficas de amplificación donde se expresa la cantidad de la fluorescencia obtenida en el eje de las ordenadas y el número de ciclos del PCR en el cual la fluorescencia alcanza el umbral fijado (CT) en el eje de las abscisas<sup>21</sup>; la cuantificación de la fluorescencia emitida durante cada ciclo de la PCR es proporcional a la cantidad de ADN amplificada. Se realizó la cuantificación de las unidades de abundancia relativa de Firmicutes y Bacteroidetes con la siguiente fórmula  $UAR = 2^{-\Delta Ct}$  donde: UAR= Unidades de Abundancia

Relativa y  $\Delta Ct = Ct \text{ primer específico} - Ct \text{ primer universal}$ <sup>22</sup>. Las UAR de microbiota expresan un aproximado de unidades bacterianas de un filo con respecto a otro, y permite conocer la diferencia de distribución de la población bacteriana en determinada área.

### Patrones de alimentación

Para identificar patrones de alimentación, se obtuvo información mediante un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos semicuantitativo (CFCA) que incluía un total de 107 preguntas con 10 opciones de respuesta de frecuencia que van desde “nunca” a “6 o más veces al día.” De acuerdo con la frecuencia reportada se calculó el consumo diario promedio en gramos de alimentos y obtuvimos el consumo de macronutrientes y la ingesta total de energía para cada niño en el estudio utilizando la base de datos de composición de alimentos ENSANUT 2012<sup>4</sup>.

Para la identificación de los patrones de alimentación se eliminaron 74 participantes que reportaron un consumo diario de energía total por encima de 6.388,83 kcal/d, según el método DE<sup>23</sup>. Los alimentos y bebidas del CFCA se clasificaron en 22 grupos (Fig. 2) con base en la similitud en el contenido de nutrientes entre ellos. Los patrones de alimentación se caracterizaron por análisis de componentes principales (ACP),<sup>24</sup> utilizando una rotación ortogonal (varimax) y elegimos los factores con un autovalor mayor a 1.50. Bajo estos criterios, se identificaron 2 patrones, que en conjunto representan el 20% de la varianza total (12% del patrón 1 y 8% del patrón 2). Se predijo el valor de varianza en cada patrón para cada niño. Los valores más altos indican que el niño tiene mayor adherencia a una dieta particular o patrón de alimentación.

Cada patrón se definió por los grupos de alimentos con un factor de carga >0.30 (Cuadro 3); este valor se ha reportado en otros estudios como un valor apropiado para clasificar un factor significativo<sup>25</sup>. Los dos patrones de alimentación identificados (Fig. 3) se describen de la siguiente manera: Patrón 1: No saludable (Antojitos mexicanos y comida rápida, y Alimentos con alto contenido de grasas saturadas.) y Patrón 2: Saludable (Frutas frescas, Verduras frescas y Pescado).

Grupo	Nombre	Secuencia	Concentración	TM
Universal	926Forward	5'AAACTCAAAGGAATTGACGG3'	343 pmol/µL	60
	1062Reverse	5'CTCACRRACGAGCTGAC3'	266 pmol/µL	68
Bacteroidetes	798cfbForward	5'CRAACAGGATTAGATACCCT3'	393 pmol/µL	60
	Cfb967Reverse	5'GGTAAGGTTCCCTCGCGTAT3'	407 pmol/µL	62
Firmicutes	928F-Forward	5'TGAAACTYAAAGGAATTGACGG3'	327 pmol/µL	62
	1040Reverse	5'ACCATGCACCACCTGTC3'	378 pmol/µL	64

Fig. 1.—Pares de primer utilizados en la qPCR.

<i>Grupos de alimentos</i>	<i>Alimentos que los constituyen</i>
1. Tortilla y alimentos a base de maíz	Tortilla de maíz, elote, pozole, palomitas de maíz, sope asado y tamales.
2. Antojitos mexicanos y comida rápida.	Tacos al pastor, sope frito, tortas, hamburguesas, nuggets, sándwiches, hot dogs, pizza, carnitas y barbacoa.
3. Pan de trigo y tortilla de harina y productos de panadería azucarados	Pan de caja blanco, pan de caja integral, bolillo, tortilla de harina, Pan de dulce, hot cakes, pastel, pastelillo relleno y galletas dulces.
4. Cereales listos para comer	Avena, cereal con fibra, cereales de caja sin azúcar, cereales azucarados y barras de cereal.
5. Papas, arroz y pasta	Papas, arroz, pasta seca y sopa de pasta caldosa
6. Leguminosas	Frijol y lentejas
7. Frutas frescas	Naranja, mandarina, manzana, pera, plátano, melón, mango, piña, papaya, sandía, fresa, durazno, uvas y ciruelas.
8. Verduras frescas	Jitomate, jícama, zanahoria, pepino, lechuga, nopal, calabacitas, brócoli y chicharos.
9. Picantes	Salsas picantes y chiles
10. Pollo	Pollo y hígado de pollo
11. Pescado	Pescado, atún y sardina
12. Carnes rojas	Carne de res, hígado de res y carne de cerdo
13. Embutidos	Jamón y salchichas
14. Agua	Agua natural
15. Lácteos con bajo contenido de grasa.	Leche descremada
16. Lácteos con alto contenido de grasa.	Leche entera, yogurt natural, yogurt activia flora, queso manchego, queso amarillo, malteadas, danonino, helado, leche con chocolate y queso crema, queso Oaxaca.
17. Huevos	Huevo.
18. Alimentos con grasa saturada	Chicharrón, chorizo y tocino.
19. Aderezos	Mayonesa, margarina y aderezos.
20. Dulces y azúcares	Agua fresca con azúcar, Yakult , agua con endulzante en polvo, jugo de naranja, dulces, chocolate, miel y dulce de chamoy.
21. Refrescos	Refresco de cola y de sabor, jugo industrializado y bebidas hidratantes.
22. Botanas saladas	Papas a la francesa, Frituras, galletas saladas y cacahuates japoneses.

Fig. 2.—Grupos de alimentos.

<i>Grupos de alimentos</i>	<i>Patrón 1: No Saludable</i>	<i>Patrón 2: Saludable</i>
Antojitos mexicanos y comida rápida.	<b>0.34</b>	-0.07
Frutas frescas	-0.10	<b>0.45</b>
Verduras frescas	0.02	<b>0.46</b>
Pescado	0.11	<b>0.32</b>
Alimentos con grasa saturada	<b>0.32</b>	0.08

Fig. 3.—Matriz de factores de carga de los patrones de alimentación

### *Análisis estadístico*

Para la descripción de las variables relevantes la población de estudio fue estratificada por la adiposidad (según IMC) en peso normal y sobrepeso/obesidad, para la comparación de los grupos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para las variables continuas y la prueba de chi-cuadrada ( $\chi^2$ ) para las variables categóricas.

Antes de evaluar el efecto de la dieta, los patrones de alimentación se dividieron en terciles (consumo bajo, medio y alto) con base en la distribución del consumo de los niños con peso normal. Para evaluar la asociación entre la abundancia relativa de microbiota y el riesgo de tener sobrepeso/obesidad la abundancia se categorizó en abundancia baja (menor al promedio) o alta (mayor al promedio) y se realizó un modelo de

regresión logística teniendo como grupo de referencia a los niños con peso normal. Para evaluar la modificación del efecto dependiendo del patrón de alimentación se realizó el mismo modelo de regresión pero se estratificó por los terciles de consumo bajo, medio y alto de cada patrón. Todos los modelos se ajustaron por el sexo, edad, antecedente hereditario de obesidad y actividad física. El valor de *p* que consideramos para significancia estadística en los modelos de regresión fue de 0.008 después de corregir por el método de Bonferroni para evitar error por múltiples comparaciones<sup>26</sup>. Para todos los análisis realizados se utilizó la versión 12.0 del software paquete estadístico STATA SE (College Station, TX).

## Resultados

La tabla I muestra las características generales de la población de acuerdo con el grado de adiposidad (peso normal y sobrepeso/obesidad). Las presiones arteriales sistólica y diastólica aumentan con el grado de adiposidad (*p*=0.0001). Los niveles en sangre de glucosa,

colesterol total, triglicéridos y LDL son mayores para el grupo de obesos (*p*=0.0002, *p*=0.001, *p*=0.0001 y *p*=0.0001, respectivamente) y HDL fue menor para este grupo (*p*=0.0001). La historia familiar de obesidad y DT2 fue mayor en el grupo de obesos con 58.5% y 61.9% respectivamente (*p*<0.0001 y *p*=0.02). La abundancia relativa de Bacteroidetes es mayor en los niños con peso normal (1.19 ± 3.52 UAR, *p*=0.03) y la abundancia relativa de Firmicutes es mayor en los niños con sobrepeso/obesidad (1.64 ± 5.47 UAR, *p*=0.0007).

Cuando evaluamos la asociación entre la abundancia relativa de Bacteroidetes y de Firmicutes y el riesgo de tener sobrepeso/obesidad (Tabla II) observamos que los niños con un perfil de abundancia relativa alta de Bacteroidetes tienen 40% menos posibilidades de presentar sobrepeso u obesidad (OR=0.62, *p*=0.001) en comparación con los niños con un perfil de abundancia relativa baja; por otro lado encontramos que los niños con un perfil de abundancia relativa alta de Firmicutes tienen 1.5 veces más posibilidades de presentar sobrepeso/obesidad (OR=1.53, *p*<0.003) en comparación a los niños con un perfil de abundancia relativa baja. Dichas asociaciones son estadísticamente significativas.

**Tabla I**  
Características generales de la población por IMC

	Normal (n=503)	SP/OB (n=539)	<i>p</i> <sup>a</sup>
Sexo			
% F	50.3	49.7	
% M	46.4	53.6	0.212
Edad (a)	8.98 ± 2.06	9.43 ± 2.01	0.0002
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	16.54 ± 1.83	22.88 ± 3.54	0.0001
C. cintura (cm)	58.39 ± 6.40	75.243 ± 10.27	0.0001
PAS (mmHg)	95.28 ± 9.54	100.76 ± 10.54	0.0001
PAD (mmHg)	64.29 ± 8.20	67.51 ± 8.79	0.0001
Glucosa (mg/dl)	80.12 ± 9.47	82.25 ± 8.85	0.0002
Col. total(mg/dl)	149.67 ± 31.89	159.64 ± 86.49	0.001
Triglicéridos (mg/dl)	74.19 ± 29.27	109.69 ± 55.32	0.0001
HDL (mg/dl)	51.90 ± 11.53	45.96 ± 11.79	0.0001
LDL (mg/dl)	95.59 ± 24.21	105.63 ± 26.93	0.0001
Energía total (kcal)	3239.70 ± 1038.34	3296.61 ± 1072.43	0.5631
Actividad Física (Mets/hora/sem)	485.88 ± 395.98	465.01 ± 416.30	0.1608
Antecedente Hereditario de obesidad (%)	41.46	58.5	<0.0001
Antecedente Hereditario de DT2 (%)	38.05	61.95	0.02
UAR Bacteroidetes	<b>1.19 ± 3.52</b>	<b>0.76 ± 1.49</b>	0.035
UAR Firmicutes	<b>1.01 ± 2.24</b>	<b>1.64 ± 5.47</b>	0.0007

Los valores están expresados en % para las variables categóricas y en media ± DE para las variables continuas. F: femenino, M: masculino, IMC: índice de masa corporal, C.C: circunferencia de la cintura, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, HDL: lipoproteínas de alta densidad, LDL: lipoproteínas de baja densidad, UAR: unidades de abundancia relativa, DT2: diabetes tipo 2. <sup>a</sup>Valor de *p* de ji 2 para variables categóricas y prueba de *p*-valor de Kruskal Wallis para variables continuas.



**Tabla II**  
Asociación entre la abundancia relativa de microbiota y el riesgo de tener sobrepeso/obesidad

	OR*	p	IC 95%
AR Bacteroidetes	0.62	0.001	0.47, 0.82
AR Firmicutes	1.53	0.003	1.16, 2.01

ARB: abundancia relativa de Bacteroidetes, ARF: abundancia relativa de Firmicutes \*Ajustado por sexo, edad, actividad física y antecedente familiar de obesidad. Grupo de referencia: AR baja.

Para evaluar si la dieta modifica el efecto de la microbiota sobre el riesgo de tener sobrepeso/obesidad, realizamos una regresión logística estratificando los modelos por tercil de consumo de cada patrón de alimentación. Con respecto al consumo del patrón 1 o no saludable (Tabla III), observamos que los niños con abundancia relativa alta de Bacteroidetes y un alto consumo del patrón 1 tienen 51% menos posibilidades de presentar sobrepeso/obesidad (OR=0.49,  $p=0.004$ ), en sentido contrario los niños con abundancia relativa alta de Firmicutes y un consumo alto de patrón 1 tienen 2 veces más posibilidades de tener sobrepeso/obesidad (OR=1.98,  $p=0.006$ ). Al evaluar el consumo del patrón 2 o Saludable (Tabla IV), se observó que los niños con una abundancia relativa alta de Bacteroidetes y un consumo alto de este patrón tienen 55% menos posibilidades de tener sobrepeso/obesidad (OR=0.45,  $p=0.001$ ). Finalmente observamos que los niños con un consumo bajo del patrón 2 y una abundancia relativa alta de Firmicutes tienen 2 veces más posibilidades de presentar sobrepeso/obesidad (OR=2.00,  $p=0.005$ ). Todas las asociaciones son estadísticamente significativas.

## Discusión

En este trabajo encontramos que en población infantil mexicana un perfil de abundancia relativa alta

de Firmicutes y una abundancia relativa baja de Bacteroidetes se asocia significativamente con el riesgo de tener sobrepeso y obesidad. Estos resultados coinciden con los primeros reportes que establecieron la hipótesis de que la microbiota intestinal favorece el almacén de grasa en el organismo. En un modelo animal, Bäckhed y cols., observaron que ratones libres de gérmenes tenían 40% menos grasa corporal en comparación a los ratones convencionales<sup>13</sup>. También se ha observado que la microbiota intestinal de ratones genéticamente obesos (ob/ob) tiene 50% mayor proporción de Firmicutes y menor proporción de Bacteroidetes, en comparación a los ratones de peso normal<sup>27</sup>. En humanos un comportamiento similar se observó en el estudio de Ley y cols., quienes siguieron a voluntarios obesos que recibieron una dieta de reducción durante 52 semanas y observaron que a medida que perdían peso la abundancia relativa de Firmicutes disminuía mientras que la abundancia relativa de Bacteroidetes aumentaba<sup>14</sup>.

Aunado a lo anterior, encontramos que la interacción entre la microbiota intestinal y la dieta de los niños tiene un efecto importante tanto en protección como en el riesgo de obesidad. Por un lado observamos el fuerte papel de la microbiota en la protección contra sobrepeso y obesidad ya que el presentar una abundancia relativa alta de Bacteroidetes confiere a los niños menos riesgo de presentar obesidad si tienen un consumo alto de frutas, verduras y pescado. Por otro lado observamos el papel de la dieta ya que el efecto que confiere una abundancia relativa alta de Firmicutes sobre el riesgo de presentar obesidad depende del consumo alto de un patrón de alimentación no saludable caracterizado por alimentos con elevado contenido de carbohidratos complejos y grasas saturadas, y del consumo bajo de alimentos ricos en micronutrientes y fibra (patrón saludable). Dichos hallazgos coinciden con los encontrados por Cotillard y cols., quienes realizaron un estudio de intervención (dieta de reducción y mantenimiento de peso) para

**Tabla III**  
Asociación entre la abundancia relativa de microbiota y el riesgo de tener sobrepeso/obesidad, estratificado por tercil de consumo del Patrón 1<sup>+</sup>

	Bacteroidetes			Firmicutes		
	OR*	p**	IC 95%	OR*	p**	IC 95%
<b>Consumo bajo</b>						
AR Alta <sup>a</sup>	0.69	0.12	0.43, 1.10	1.34	0.23	0.83, 2.15
<b>Consumo medio</b>						
AR Alta	0.66	0.10	0.40, 1.09	1.37	0.21	0.84, 2.24
<b>Consumo alto</b>						
AR Alta	<b>0.49</b>	<b>0.004</b>	<b>0.30, 0.80</b>	<b>1.98</b>	<b>0.006</b>	<b>1.21, 3.24</b>

AR: abundancia relativa, <sup>a</sup>Grupo de referencia: AR baja.

\*Ajustado por sexo, edad, actividad física, antecedente familiar de obesidad.

\*\* Valor  $p$  ajustado por múltiples comparaciones <0.008 \*Patrón 1: No saludable (Antojitos mexicanos y comida rápida, y Alimentos con alto contenido de grasas saturadas).

**Tabla IV**  
Asociación entre la abundancia relativa de microbiota y el riesgo de tener sobrepeso/obesidad, estratificado por tercil de consumo del Patrón 2<sup>+</sup>

<i>Bacteroidetes</i>				<i>Firmicutes</i>			
	OR*	p**	IC 95%		OR*	p**	IC 95%
<b>Consumo bajo</b>				<b>Consumo bajo</b>			
AR Alta <sup>a</sup>	0.70	0.16	0.43, 1.14	AR Alta	<b>2.00</b>	<b>0.005</b>	<b>1.23, 3.26</b>
<b>Consumo medio</b>				<b>Consumo medio</b>			
AR Alta	0.80	0.37	0.48, 1.32	AR Alta	1.04	0.87	0.63, 1.72
<b>Consumo alto</b>				<b>Consumo alto</b>			
AR Alta	<b>0.45</b>	<b>0.001</b>	<b>0.28, 0.71</b>	AR Alta	1.57	0.05	0.99, 2.49

AR: abundancia relativa, <sup>a</sup>Grupo de referencia: AR baja.

\*Ajustado por sexo, edad, actividad física, antecedente familiar de obesidad.

\*\* Valor *p* ajustado por múltiples comparaciones <0.008 <sup>+</sup>Patrón 2: Saludable (Frutas frescas, Verduras frescas y Pescado).

investigar la temporalidad de las asociaciones entre microbiota, dieta y los fenotipos asociados a obesidad e inflamación<sup>28</sup>. Determinaron el perfil de frecuencia de genes de microbiota haciendo coincidir las lecturas de secuencia de cada muestra con un catálogo de referencia de genes de bacterias intestinales, para establecer el grado de diversidad. Clasificaron a los individuos de acuerdo a la riqueza (diversidad alta o baja) de genes de microbiota y observaron que la intervención dietética mejora la baja riqueza de genes de microbiota y los fenotipos clínicos. Antes de la intervención midieron los patrones de alimentación de los participantes y observaron que los sujetos con baja riqueza de microbiota parecían consumir menos frutas, verduras y pescado en comparación a los sujetos con alta riqueza de microbiota, por lo que sugieren la posibilidad de que los hábitos alimenticios a largo plazo pueden afectar a la riqueza de genes de microbiota y los fenotipos asociados<sup>29</sup>. Dichos alimentos (frutas, verduras y pescado) son los mismos que integran nuestro patrón saludable, por lo que la promoción del aumento en el consumo de este patrón podría influir en forma positiva la prevención de la obesidad, no solo por el efecto de la dieta en el metabolismo humano sino por su fuerte influencia en la composición de la microbiota.

Es importante señalar que aun cuando nuestros resultados van en el mismo sentido que lo reportado en las primeras investigaciones, necesitamos explorar la microbiota a niveles más profundos, a nivel de especies particulares o incluso por abundancia de genes, ya que se ha encontrado que aquellos individuos con baja diversidad de microbiota presentan mayor grado de adiposidad. Este efecto puede deberse a la menor presencia de bacterias productoras de butirato (ácido graso de cadena corta que mejora la sensibilidad a la insulina y promueve el gasto de energía) favoreciendo la inflamación característica de la obesidad y las enfermedades crónicas asociadas<sup>30</sup>.

## Conclusión

En una muestra de niños mexicanos de la ciudad de México, un perfil de microbiota con abundancia relativa alta de Bacteroidetes confiere protección contra sobrepeso y obesidad, contrario a un perfil de microbiota con abundancia relativa alta de Firmicutes que confiere riesgo. Aún cuando la evidencia reciente señala a la microbiota como un fuerte factor de riesgo en el desarrollo de obesidad, su interacción con la dieta, particularmente un alto consumo de grasas saturadas y menor consumo de alimentos saludables incrementa las posibilidades de presentar obesidad. Por tal motivo la promoción del consumo de dietas saludables sigue siendo una estrategia fundamental en la prevención de obesidad.

## Financiamiento

Este trabajo fue financiado por SSA/IMSS/ISSSTE-CONACYT 2012 -180808, the CONACYT SALUD-2005-C02-14412; Proyectos Estratégicos IMSS 2004-3601-0020; Fundación IMSS, A.C.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a los integrantes de la Unidad de Bioquímica-IMSS por la asistencia técnica en los ensayos Bioquímicos y ELISA; al grupo de Epidemiología genética del INSP quienes se encargaron de la recolección de la información y mediciones antropométricas.

## Conflictos de interés

Los autores declaran que no hay ningún conflicto de interés.

## Referencias

1. Hill J. Can a small-changes approach help address the obesity epidemic? A report of the Joint Task Force of the American Society for Nutrition, Institute of Food Technologists, and International Food Information Council. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 477-84.
2. Haslam D, James W. Obesity. *Lancet* 2005; 366(9492): 1197-1209.
3. Blancas-Flores G, Almanza-Pérez J, López-Roa R, Alarcón-Aguilar F, García-Macedo R, Cruz M. La obesidad como un proceso inflamatorio. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2009; 6: 89-96.
4. Gutiérrez J, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, et al. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012*. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX), 2012.
5. Obesidad y sobrepeso. Nota descriptiva N°311. Organización Mundial de la Salud. Marzo de 2011. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/index.html>
6. Isganaitis E, Levitsky LL. Preventing childhood obesity: can we do it? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008; 15: 1-8.
7. Patro B, Szajewska H. Meal patterns and childhood obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13(3): 300-04.
8. Bäckhed F, Ley R, Sonnenburg J. et al. Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science* 2005; 307: 1915-20.
9. Gill S, Pop M, DeBoy R, et al. Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome. *Science* 2006; 312: 1355.
10. Braun-Fahrländer C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, et al. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002; 347(12): 869-77.
11. Cani P, Delzenne N. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Current Pharmaceutical Design* 2009; 15: 1546-58.
12. Flint H, Duncan S, Scott K, Louis P. Interactions and competition within the microbial community of the human colon: links between diet and health. *Environmental Microbiology* 2007; 9(5):1101-1111.
13. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper L, Young Koh G, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(44): 15718-23.
14. Ley R, Turnbaugh P, Klein S, Gordon J. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1021-23.
15. Cani P, Amar J, Iglesias M, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761-72.
16. Cani P, Neyrinck A, Fava F, Knauf C, Burcelin R, Tuohy K, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 2007; 50:2374-83.
17. Duncan S, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone A, Flint H, Lobley E. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73:1073-78.
18. Grundy S, Cleeman J, Daniels S, Donato K, Eckel R, Franklin B, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112: 2735-
19. De Onis M, Onyango A, Borghi E, Siyam A, Nishida Ch, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ* 2007; 85: 660-7.
20. Bacchetti De Gregoris, T. Aldred, N. Clare, AS. Burgess, JG. Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa. *Journal of Microbiological Method* 2011; 86 (6): 351-356.
21. Vandesampele J, De Peter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology* 2002; 3(7): 0034.1-0034.11.
22. Thomas D Schmittgen & Kenneth J Livak. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature protocols* 2008;3 (6):1101-1108.
23. Rosner B. Percentage points for a generalized ESD many-outlier procedure. *Technometrics* 1983; 25: 165-72.
24. Newby P, Weismayer C, Kesson A, Tucker K, Wolky A. Long-term stability of food patterns identified by use of factor analysis among Swedish women. *J Nutr* 2006; 136: 626-33.
25. Hair J, Anderson R, Tatham R and Black W. *Análisis Multivariante*, Prentice Hall. 5ª edición. Madrid, 1999.
26. Kotz S, Johnson NL. *Encyclopedia of Statistical Sciences*, Vol. 5. New York: John Wiley & Sons, 1985.
27. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102 (31):11070-5.
28. Cotillard A, Kennedy S.P, Kong L. C, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E. et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature* 2013; 500:585-588.
29. Claesson M.J, Jeffery IB, Conde S, Power S.E, O'Connor E, M, Cusack S. et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature* 2012; 488:178-184.
30. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 2013; 500:541-46.