



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA
BIOMEDICINA

**INFLUENCIA DE LA DIETA HABITUAL SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL Y
SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE COMPLICACIONES METABÓLICAS EN
NIÑOS ESCOLARES**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

LN. MARTÍNEZ MEDINA JENNIFER NAZAT

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. SOFÍA MORÁN RAMOS
INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA.

COMITÉ TUTOR: DR. FAUSTO SÁNCHEZ MUÑOZ
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ.
DR. SAMUEL CANIZALES QUINTEROS
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

CD. MX.,

MARZO, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA
BIOMEDICINA

**INFLUENCIA DE LA DIETA HABITUAL SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL Y
SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE COMPLICACIONES METABÓLICAS EN
NIÑOS ESCOLARES**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

LN. MARTÍNEZ MEDINA JENNIFER NAZAT

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. SOFÍA MORÁN RAMOS
INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA.

COMITÉ TUTOR: DR. FAUSTO SÁNCHEZ MUÑOZ
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ.
DR. SAMUEL CANIZALES QUINTEROS
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

MÉXICO, CD. MX., MARZO, 2020

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA

OFICIO CPCB/187/2020

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **11 de noviembre de 2019** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biomedicina** de la estudiante **MARTÍNEZ MEDINA JENNIFER NAZAT** con número de cuenta **518002505** con la tesis titulada **"INFLUENCIA DE LA DIETA HABITUAL SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL Y SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE COMPLICACIONES METABÓLICAS EN NIÑOS ESCOLARES"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. SOFÍA MORÁN RAMOS**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. LUIS DAVID ALCARAZ PERAZA
Vocal: DRA. ILEANA PATRICIA CANTO CETINA
Secretario: DR. FAUSTO SÁNCHEZ MUÑOZ
Suplente: DR. ISAAC GONZÁLEZ SANTOYO
Suplente: DRA. LILIA GUADALUPE NORIEGA LÓPEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 13 de febrero de 2020

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos

Primeramente, quisiera agradecer al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM y a los apoyos recibidos por CONACYT. También quiero agradecer a mi Tutora Dra. Sofía Morán Ramos, que me estuvo apoyando durante este tiempo en el desarrollo del proyecto de investigación, así como a mi Comité Tutor conformado por el Dr. Samuel Canizales Quinteros y el Dr. Fausto Sánchez Muñoz.

Dedicada a mis padres y hermana.

Índice

Abreviaturas

Lista de figuras

Lista de tablas

Resumen	1
Abstract.....	5
1.Introducción	8
2. Antecedentes.....	11
2.1. Sobrepeso y obesidad.....	11
2.2. Complicaciones metabólicas asociadas al sobrepeso y obesidad en niños	11
2.2.1. Resistencia a la insulina.....	12
2.2.2. Dislipidemias	12
2.2.3. Síndrome Metabólico	13
2.3. La importancia de la dieta en la presencia de sobrepeso, obesidad y complicaciones metabólicas en niños	13
2.3.1. Transición alimentaria en México.....	13
2.3.2. Patrones dietarios	14
2.3.3. Patrones dietarios en la obesidad.....	14
2.3.4. Patrones dietarios y complicaciones metabólicas	15
2.4. Microbiota intestinal.....	16
2.4.1. Patrones dietarios en relación con la microbiota intestinal	17
2.4.2. Microbiota intestinal en la obesidad	18
2.4.3. Microbiota intestinal y el fenotipo metabólico	20
2.4.4. Relación entre los patrones dietarios, la microbiota intestinal y el fenotipo.....	21
3.Justificación	25
4. Hipótesis	26
5. Objetivos.....	26
6. Metodología	27
6.1. Diseño del estudio	27
6.2. Criterios de selección	27

6.3. Evaluación de datos demográficos y personales del niño	27
6.3.1. Encuesta clínico–demográfica	27
6.3.2. Evaluación de la dieta	27
6.3.3. Datos antropométricos	30
6.3.4. Análisis de composición corporal.....	30
6.3.5. Datos clínicos y bioquímicos	30
6.3.6. Clasificación del Síndrome Metabólico	32
6.4. Análisis de microbiota intestinal	32
6.4.1. Extracción de DNA de muestras fecales.....	32
6.4.2. Preparación de bibliotecas	32
6.5. Procesamiento de las secuencias de amplicones del gen 16S rRNA	34
6.6. Inferencia de la funcionalidad de la MI	35
6.7. Estadística	35
7. Resultados	37
7.1. Descripción de la muestra	37
7.2. Determinación de las complicaciones metabólicas.....	38
7.3. Identificación de los patrones dietarios	38
7.4. Asociación de los patrones dietarios con los parámetros metabólicos.....	40
7.5. Asociación de los patrones dietarios con el estilo de vida	42
7.6. Microbiota Intestinal.....	43
7.6.1. Caracterización de la microbiota intestinal	43
7.6.2. Interacción entre la dieta, la estructura de la microbiota intestinal y el fenotipo metabólico.	43
7.6.3. Predicción de la funcionalidad de la microbiota intestinal.....	55
8. Discusión	56
9. Conclusiones	65
10. Perspectivas	66
11. Literatura citada	67
12. Apéndice (contenido adicional del trabajo)	83
Anexo 1: Grupos de alimentos	83
Anexo 2: Extracción de DNA de muestra fecales.	84
Anexo 3: Lista de oligonucleótidos para la primera PCR.....	85

Anexo 4: Lista de oligonucleótidos para segunda PCR.	86
Anexo 5: Comparaciones de datos antropométricos, bioquímicos y clínicos de los niños y niñas.	87
Anexo 6: Comparaciones de datos antropométricos, bioquímicos y clínicos entre niños y adolescentes.	88
Anexo 7: Comparaciones de datos antropométricos, bioquímicos y clínicos entre niños y niñas, y por grupo de edad.	89
Anexo 8: Correlaciones entre fibra dietaria y los parámetros metabólicos.	90
Anexo 9: Abundancias relativas en los diferentes niveles taxonómicos.	91
Anexo 10: Comparaciones de los nutrientes por enterotipo.	94
Anexo 11: Comparaciones del consumo de los patrones dietarios en diferentes complicaciones metabólicas en cada uno de los enterotipos.	95
Anexo 12: Vías funcionales del Metabolismo inferidas por PICRUS.	96

Abreviaturas

Abreviatura	Significado
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
ALT	Alanino aminotransferasa
AOA	Alimentos de Origen Animal
AR	Abundancia relativa
AST	Aspartato aminotransferasa
CDC	Centros para el Control y Prevención de Enfermedades
c-HDL	Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad
c-LDL	Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad
CT	Colesterol total
DE	Desviación estándar
DMT2	Diabetes Mellitus Tipo 2
EFCA	Encuesta de Frecuencia de Consumo de Alimentos
FD	Fibra dietaria
FDR	False discovery rate
GA	Grupos de alimentos
GGT	Gamma glutamil transferasa
GLP-1	Péptido similar a glucagón 1
GPCR	Receptores acoplados a proteínas G
HOMA-IR	Evaluación del modelo homeostático de resistencia a la insulina
HTA	Hipertensión arterial
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
LPS	Lipopolisacárido
MACs	Carbohidratos Metabólicamente disponibles para la microbiota intestinal
MG	Masa grasa
MI	Microbiota intestinal
MLG	Masa libre de grasa
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PCA	Análisis de componentes principales
PCR	Reacción en Cadena de Polimerasa
PD	Patrón dietario
pIMC	Percentil de Índice de masa corporal
PYY	Péptido YY
QIIME	Quantitative Insights Into Microbial Ecology
RI	Resistencia a la insulina
SNUT	Evaluación de Hábitos Nutricionales y Consumo de Nutrientos
TG	Triglicéridos
TLR4	Receptores tipo Toll 4
VE	Varianza explicada

Lista de figuras y tablas

Lista de figuras

Figura	Nombre de la figura	Página
1	Cambio en el consumo de alimentos en población mexicana.	14
2	Esquema de la interacción de la microbiota intestinal como mediador del efecto o modificador del efecto entre la dieta-fenotipo metabólico.	23
3	Diagrama de flujo de los criterios de selección de los datos de alimentación obtenidos mediante la Encuesta de Frecuencia de Consumo de Alimentos, para la evaluación de los patrones dietarios y, los patrones dietarios con la microbiota intestinal.	29
4	Proceso general para la evaluación de la microbiota intestinal.	32
5	Metodología para la amplificación, purificación y cuantificación de amplicones de DNA de la región hipervariable V4 del gen 16S rRNA.	33
6	Proporciones de los niños conforme a la clasificación del estado nutricional por los percentiles del IMC, según los CDC.	38
7	Gráfico de sedimentación del análisis de componentes principales representando el número de componentes.	38
8	Gráficos de araña representados por el factor de consumo de los grupos de alimentos en cada patrón dietario.	39
9	Mapa de calor de las correlaciones Spearman entre los factores de consumo de los patrones dietarios y los nutrientes (g, mg, mcg o UI / 1000 kcal / día).	40
10	Mapa de calor de las correlaciones parciales Spearman entre los factores de consumo de los patrones dietarios y los parámetros bioquímicos y el percentil de IMC.	42
11	Mapa de calor de las correlaciones parciales Spearman entre la taxonomía a nivel de <i>phyla</i> , clase, orden, familia y género con el factor de consumo de los patrones dietarios.	45
12	Mapa de calor de las correlaciones parciales Spearman entre los factores de consumo de los patrones dietarios y los índices de diversidad alfa.	45
13	Gráficos de cajas y bigotes representando las comparaciones de la abundancia relativa de <i>Lachnospira</i> en el estado nutricional y dislipidemias.	47
14	Análisis de coordenadas principales (PCoA) de los enterotipos identificados.	49
15	Gráficos de cajas y bigotes del puntaje de los patrones dietarios de los niños estratificados por enterotipo.	50
16	Mapa de calor de las correlaciones parciales entre los factores de los patrones dietarios y los parámetros metabólicos en la muestra estratificada por enterotipo.	51
17	Mapa de calor de las correlaciones parciales entre el consumo de fibra dietaria y los parámetros metabólicos en la muestra estratificada por enterotipo.	52

18	Mapa de calor de las correlaciones parciales entre los índices de diversidad alfa de la microbiota intestinal y los parámetros metabólicos en la muestra estratificada por enterotipo.	53
19	Mapa de calor de las correlaciones parciales entre la fibra insoluble-hemicelulosa y celulosa con la taxonomía a nivel de familia y género.	54
20	Efecto mediador propuesto para <i>Lachnospira</i> en el consumo de un patrón dietario de Alimentos de Origen Animal sobre el sobrepeso-obesidad y dislipidemia.	59
21	El enterotipo <i>Prevotella</i> como moderador del efecto en la interacción de la fibra insoluble (hemicelulosa) con la disminución de marcadores de resistencia a la insulina.	63

Lista de tablas

Tabla	Nombre de la tabla	Página
1	Rangos para la clasificación del peso en niños y adolescentes según los CDC.	11
2	Cortes de referencia de colesterol total, c-LDL, c-HDL y triglicéridos en niños.	12
3	Cortes de referencia para el establecimiento del Síndrome Metabólico en niños.	13
4	Grupos de alimentos incluidos en la Encuesta de Frecuencia de Consumo de Alimentos.	28
5	Factores según la frecuencia de consumo al día de la Encuesta de Frecuencia de Consumo de Alimentos.	28
6	Cortes para la clasificación de la presión arterial en niños.	31
7	Cortes para la clasificación de dislipidemias en niños.	31
8	Criterios para la determinación de Síndrome Metabólico en niños.	32
9	Resultados descriptivos de la muestra.	37
10	Valores descriptivos de la diversidad alfa y número de OTUs.	43
11	Asociaciones entre los factores de consumo de los patrones dietarios y la variación de la estructura de la microbiota intestinal evaluada por la diversidad beta.	44
12	Correlaciones parciales entre el consumo de fibra dietaria y la diversidad alfa.	46
13	Correlaciones parciales entre la diversidad alfa de la microbiota intestinal y los parámetros metabólicos.	48
14	Comparaciones de diferentes parámetros metabólicos por enterotipo.	49
15	Correlación entre la fibra insoluble y la hemicelulosa con el consumo de los GA frutas, verduras y leguminosas en los niños estratificados con el enterotipo <i>Prevotella</i> .	54

Resumen

Influencia de la dieta habitual sobre la microbiota intestinal y su relación con la presencia de complicaciones metabólicas en niños escolares

Antecedentes: La obesidad es una enfermedad multifactorial que puede condicionar el desarrollo de complicaciones metabólicas. Además, la presencia de sobrepeso y obesidad desde edades tempranas se relaciona con un menor estado de salud durante la adultez. En México, uno de los factores relacionados con la prevalencia de sobrepeso-obesidad es la transición alimentaria, representada por una dieta habitual caracterizada por el consumo de alimentos ricos en grasas, proteínas y alimentos industrializados y un menor consumo de frutas, verduras, cereales y leguminosas, los cuales son ricos en fibra dietaria (FD) y característicos de un patrón dietario (PD) Saludable (1–5).

Otro factor que ha sido relacionado en la última década con la prevalencia de sobrepeso, obesidad y complicaciones metabólicas es la microbiota intestinal (MI). En este sentido, en personas con obesidad se ha reportado una menor diversidad de la MI en comparación con personas en normopeso, así como la presencia o ausencia de determinadas bacterias (6,7).

De manera interesante, la dieta habitual puede interactuar con la MI influenciando así el fenotipo metabólico. Aunque inicialmente el planteamiento postulaba que la dieta podía modificar la MI y este cambio tener una influencia sobre el fenotipo metabólico, actualmente se han postulado dos hipótesis. La primera hipótesis, y consistente con la idea original sugiere que la dieta tiene un impacto directo sobre la composición de la MI, y esta modificación se asocia con el fenotipo metabólico. La segunda hipótesis, sugiere ahora que los perfiles o patrones de la MI de cada individuo, por ejemplo los enterotipos (*Bacteroides* y *Prevotella*), pueden influir en cómo se metaboliza la dieta habitual y con ello tener un efecto diferencial en el fenotipo metabólico del hospedero, como puede ser el peso corporal (8–11).

Hasta el momento, la relación entre la dieta habitual, la MI y el fenotipo (sobrepeso-obesidad y parámetros metabólicos) en niños ha sido reportada mayormente en estudios de intervención y observacionales entre poblaciones contrastantes como la urbana y rural, lo que no necesariamente refleja la influencia de la dieta habitual en poblaciones de una misma entidad, con características similares de la región. Considerando la elevada prevalencia de la obesidad y las complicaciones metabólicas en niños mexicanos, resulta relevante la evaluación de la interacción dieta habitual, MI y este fenotipo metabólico, con el fin de poder establecer nuevas estrategias dietarias que consideren el papel de la MI sobre la interacción dieta-fenotipo.

Objetivo: Evaluar la interacción de la dieta habitual con la estructura de la MI, y su relación con el estado nutricional y metabólico en población infantil mexicana.

Metodología: Estudio transversal con 336 niños entre 5 y 12 años de la Ciudad de México. La dieta habitual se evaluó mediante una Encuesta de Frecuencia de Consumo de Alimentos (EFCA). Se identificaron PD mediante un análisis de componentes principales, y los nutrientes se calcularon mediante el programa "Evaluación de Hábitos Nutricionales y Consumo de Nutrientes" (SNUT). Para la evaluación del fenotipo metabólico se analizaron rasgos antropométricos, bioquímicos y clínicos. En una submuestra de 204 niños, se evaluó la MI mediante la amplificación de la región V4 del gen 16S rRNA, y posterior secuenciación en la plataforma Illumina MiSeq. La taxonomía y la diversidad fueron obtenidas con el código de QIIME y los enterotipos fueron obtenidos mediante el algoritmo de Arumugam M., y colaboradores. Pruebas no paramétricas fueron usadas para el análisis estadístico.

Resultados: Se identificaron cuatro PD nombrados como Saludable, Alimentos de Origen Animal (AOA), Transición y Vegetariano. El consumo de un PD Saludable se asoció positivamente con niveles de colesterol total (CT), y en tendencia con el colesterol asociado a lipoproteína de baja densidad (c-LDL), influenciados por el consumo de mariscos. Además, estos dos parámetros también correlacionaron positivamente con el consumo del PD AOA. Sin embargo, al comparar el consumo de estos PD entre niños con niveles aceptables vs altos, solo hubo diferencias significativas para el PD AOA ($p < 0.05$). En contraste, el consumo del PD Vegetariano se asoció con menor riesgo de sobrepeso y obesidad.

Al evaluar a la MI como el mediador del efecto de la interacción de la dieta con el fenotipo metabólico de dislipidemias, el PD AOA se asoció de manera positiva con la abundancia relativa (AR) de *Lachnospira*, la cual también se observó en una mayor proporción de niños con sobrepeso-obesidad en comparación con niños en bajo peso-normopeso (1.18 % vs 0.74 % de la mediana; $p = 0.010$) y niveles altos de c-LDL en comparación con niveles aceptables de c-LDL (1.13 % vs 0.82 % de la mediana; $p = 0.032$). En contraste, el consumo del PD Saludable, alto en frutas, verduras, leguminosas, pescado y mariscos, y rico en FD, se asoció positivamente con la riqueza de la MI ($p = 0.030$), aunque no se asoció con el fenotipo metabólico de los niños. La asociación entre el PD Saludable y la diversidad alfa de la MI fue influenciada por el consumo de FD. Particularmente, el consumo de fibra insoluble y hemicelulosa se asoció positivamente con los tres índices utilizados para la evaluación de la diversidad alfa de la MI. Sin embargo, al igual que el PD Saludable, el consumo de fibra total y sus subtipos no se asoció con los rasgos o complicaciones metabólicas.

De manera interesante al estratificar a los niños por enterotipo (*Bacteroides* (66.66 %) y *Prevotella* (33.33 %)), sólo en aquellos niños del enterotipo *Bacteroides* ($n = 136$) se observó una correlación positiva entre el consumo del PD Saludable con los niveles de CT y c-LDL, que además correlacionaron con el consumo de mariscos. Esto pudiera explicar parcialmente la asociación del PD Saludable observada en el total de la muestra ($n = 336$) con el CT y c-LDL. Además, correlacionó negativamente con niveles de lipopolisacárido (LPS).

Por otro lado, solo en el enterotipo *Prevotella* ($n = 68$), el consumo de un PD de Transición se asoció positivamente con niveles de triglicéridos (TG) y glucosa, así como en tendencia con los niveles de proteína C-reactiva. En contraste, en niños de este enterotipo que presentaron bajo peso-normopeso, ausencia de Síndrome Metabólico y niveles aceptables de colesterol asociado a lipoproteína de alta densidad (c-HDL) se observó un mayor consumo del PD Vegetariano. Además, de manera interesante en estos niños el consumo de fibra insoluble, particularmente de hemicelulosa correlacionó negativamente con niveles de HOMA-IR e insulina en suero y de manera concomitante con la diversidad alfa de la MI.

Conclusiones: En el presente estudio realizado en población escolar mexicana, se identificaron cuatro PD: Saludable, AOA, Transición y Vegetariano. Aunque se desconoce el mecanismo, el consumo del PD AOA asociado positivamente con la AR de *Lachnospira* pudiera actuar como un mediador del efecto, en un mayor riesgo de sobrepeso-obesidad y dislipidemias en niños. El PD Saludable se asoció con una mayor diversidad de la MI, posiblemente por el consumo de FD, especialmente de fibra insoluble-hemicelulosa. Aunque solo en niños clasificados con un enterotipo *Prevotella*, el consumo de fibra insoluble y hemicelulosa se asoció con mejores niveles en los marcadores de la RI. Proponiendo

a este enterotipo como un modificador del efecto en la interacción del consumo de fibra insoluble-hemicelulosa y los marcadores de la resistencia a la insulina (RI). Por otro lado, en niños clasificados con el enterotipo *Bacteroides* el consumo de alimentos ricos en colesterol como los mariscos, que forman parte del PD Saludable, se asociaron con la presencia de dislipidemias, posiblemente debido a la influencia de los *Bacteroides* en la absorción de este nutriente. Por último, solo en los niños clasificados en el enterotipo *Prevotella*, aquellos que tuvieron un mayor consumo de un PD Vegetariano presentaron un mejor fenotipo metabólico.

Los resultados del presente estudio sugieren que la evaluación de los perfiles de la MI podría ser relevante para el diseño de futuras recomendaciones nutricias personalizadas.

Abstract

Influence of the habitual diet on the intestinal microbiota and its relationship with metabolic complications in school children

Background: Obesity is a multifactorial disease, that conditions the development of metabolic complications. Furthermore, the presence of overweight and obesity from an early age is related to a poor metabolic health during adulthood. In Mexico, one of the factors related to the current prevalence of overweight-obesity is the food transition. This is characterized by a habitual diet with greater consumption of foods high in fat and protein as well as industrialized foods and lower consumption of fruits, vegetables, cereals and legumes. The latter are food groups (FG) rich in dietary fiber (DF) and characteristic of a Healthy dietary pattern (DP) (1–5).

Other factor that has been related in the last decade, to the prevalence of overweight, obesity and metabolic complications is the gut microbiota (GM). It has been reported that people with obesity show a lower GM diversity, as well as the presence or absence of certain bacteria compared to people with a normal weight, (6,7) .

Interestingly, the habitual diet interacts with GM composition influencing the host phenotype. Although, the traditional perspective was that diet can modify the gut microbiota and this influences the metabolic phenotype, currently two hypotheses have been postulated. The first, and in accordance with the original idea, suggests a direct impact of diet on gut microbiota composition, and this modification is then associated with the metabolic phenotype. The second, suggests that each subject's gut microbial profile or pattern, for example enterotypes (*Bacteroides* and *Prevotella*), influence the way habitual diet is metabolized and, this has a differential effect on host metabolic phenotype, as with weight loss (8–11).

Currently, the relationship between habitual diet, GM and the phenotype (overweight-obesity and metabolic parameters) in children, has been mostly reported through intervention or observational studies comparing contrasting populations. This do not necessarily reflect the influence of habitual diet in populations of the same geographic region and with similar lifestyles. Given the higher prevalence of obesity and metabolic complications in Mexican children, it is relevant to evaluate the interaction between the habitual diet, the GM and the metabolic phenotype. This will aid in the design of new dietary strategies that consider the role of GM on the diet- phenotype.

Objective: To evaluate the interaction of habitual diet with the GM structure, and its relationship with the nutritional and metabolic status in Mexican children.

Methodology: Cross-sectional study of 5 - 12 years old children (n = 336) from Mexico City. Habitual diet was assessed by a Food Frequency Questionnaire. DP were identified through a principal component analysis and nutrients were calculated using SNUT program. For the metabolic phenotype evaluation, children's

anthropometric, biochemical and clinical traits were evaluated. In a subsample of 204 children, GM was evaluated by amplifying V4 region of the 16S rRNA gene, and subsequent sequencing on the Illumina MiSeq platform. Taxonomy and diversity were obtained with QIIME scripts. Enterotypes were obtained using Arumugam M., et al., algorithm. Nonparametric tests were used for statistical analysis.

Results: Four DPs named Healthy, Animal Source Foods (ASF), Transition and Vegetarian were identified. Intake of a Healthy DP was positively associated with total cholesterol (TC) levels, and as a trend with LDL cholesterol, and this was influenced by shellfish consumption. In addition, these two biochemical parameters also correlated positively with the intake of ASF DP. Nevertheless, when comparing children with acceptable vs high levels of cholesterol levels, significant differences were only observed for the consumption ASF DP ($p < 0.05$). In contrast, Vegetarian DP intake was associated with lower risk of overweight and obesity.

When including the GM into the diet-phenotype interaction, we observed that that higher consumption of the ASF DP was associated with a greater relative abundance of *Lachnospira*, and this genus was associated with higher prevalence of overweight-obesity and higher LDL cholesterol levels. In contrast, the Healthy DP consumption correlated positively with GM diversity. Although, this correlation was partially dependent on DF intake, neither microbial diversity or fiber consumption were associated with metabolic traits or complications. Interestingly, when children were stratified by enterotype (*Bacteroides*: 66.66% and *Prevotella*: 33.33%), just in children within *Prevotella* enterotype, the consumption of insoluble fiber and hemicellulose was positively correlated with GM diversity. Furthermore, in these children, GM diversity and DF intake correlated negatively with HOMA-IR and insulin levels.

In addition, *Prevotella* enterotype underweight-normal weight children, without Metabolic Syndrome and with acceptable levels of c-HDL cholesterol children showed a higher intake of Vegetarian DP. In contrast, intake of the Transition DP was positively associated with triglycerides and glucose levels, and as a trend with C-reactive protein levels.

Interestingly, just in those children within *Bacteroides* enterotype ($n = 136$), a positive correlation between the Healthy DP intake and TC and LDL cholesterol, was observed that also correlated with shellfish intake. This could partially explain the previously observed association in total sample ($n = 336$) between a Healthy DP with CT and LDL cholesterol. Additionally, consumption of the Healthy DP was negatively correlated with serum LPS levels in these children.

Conclusions: In the present study conducted in Mexican school-age children, four DP were identified: Healthy, ASF, Transition and Vegetarian. ASF DP correlated positively with relative abundance of *Lachnospira*, which could act as a mediator of the effect, towards a greater risk of overweight-obesity and dyslipidemias in children.

However, the mechanism remains to be elucidated. The Healthy DP was associated with a greater GM diversity, possibly related to DF intake, especially insoluble-hemicellulose fiber. However only in children classified with a *Prevotella* enterotype, insoluble fiber and hemicellulose intake were associated with lower levels of IR markers. The latter suggests that this enterotype could be a modifier of the interaction between insoluble-hemicellulose fiber consumption and insulin resistance markers. On the other hand, only in children classified with the *Bacteroides* enterotype, cholesterol-rich foods intake such as shellfish, which were included in the Healthy DP, were associated with the presence of dyslipidemias, possibly due to the influence of *Bacteroides* in the absorption of this nutrient. Finally, only within children classified in the *Prevotella* enterotype, those who had a higher consumption of a Vegetarian DP, had a better metabolic phenotype.

The results of the present study suggest that evaluation of GM profiles could be relevant for future personalized nutritional recommendations.

1.Introducción

Desde 1980, la prevalencia de sobrepeso y obesidad ha incrementado en México y en el mundo, siendo actualmente un problema de Salud Pública. De manera concomitante, ha incrementado la prevalencia de complicaciones metabólicas como la RI y las dislipidemias, así como de enfermedades cardiovasculares y enfermedades neurológicas. Además, en edades tempranas se ha presentado también un aumento en la prevalencia de sobrepeso y obesidad y, con ello el inicio de alteraciones metabólicas, evaluadas mediante parámetros como la glucosa, insulina y lípidos en suero, entre otros. Esto condiciona a que una gran parte de los niños con obesidad lleguen a ser, de igual manera, adultos con obesidad y con presencia de diversas complicaciones metabólicas (1,2,12–15).

La dieta, es uno de los principales factores ambientales que se ha relacionado con el incremento en la prevalencia del sobrepeso, obesidad y enfermedades asociadas. En la actualidad, México se encuentra en una transición alimentaria, caracterizada por un menor consumo de frutas, verduras, leguminosas y maíz, y con ello un menor consumo de FD. Además, de un mayor consumo de productos industrializados, comida rápida y preparada fuera del hogar, lo que representa un incremento en el consumo de grasas saturadas y azúcares (3).

Esto ha resultado en un cambio en la dieta habitual descrito como una adopción del PD Occidental, que se distingue por el consumo de carne roja y procesada, huevos, granos refinados y azúcar. Este tipo de PD se ha asociado con mayor prevalencia de sobrepeso-obesidad (46.70 %) en niños clasificados en el tercer tercil del PD Occidental, en comparación con niños clasificados en el tercil uno (24.10 %). Además, el mayor consumo de este PD (quinto quintil vs primer quintil) se asoció con mayor riesgo de RI (OR = 1.92; CI 95 %: 1.08 – 3.43; $p < 0.05$). En contraste, un PD Prudente o Saludable, caracterizado por el consumo de frutas, verduras, leguminosas y pescado, se ha relacionado con menor prevalencia de sobrepeso-obesidad (9.60 %) en niños clasificados en el tercil tres del consumo de un PD Prudente, en comparación con los niños clasificados en el tercil uno (59.60 %). Por ello el estudio de los PD puede ser importante para el desarrollo de estrategias encaminadas a la prevención y/o posible tratamiento de la obesidad y complicaciones metabólicas asociadas (4,5,16–20).

De manera reciente, se ha estudiado la relación de la dieta con la composición de la MI. Por lo que se sabe que cambios agudos en la dieta pueden modificar de manera rápida la composición y funcionalidad de la MI. No obstante, en el largo plazo el establecimiento de la MI está influenciado por la dieta habitual. En este sentido, en adultos y niños el consumo habitual de dietas Saludables, altas en FD, se ha asociado con un incremento y mantenimiento de la diversidad de la MI. Por el contrario, el consumo de dietas Occidentales o ricas en alimentos de origen

animal, se han relacionado con menor diversidad de la MI. Aunque a nivel taxonómico, los resultados no han sido consistentes entre los estudios, de manera general el consumo de un PD Saludable se ha asociado con una mayor abundancia de *Bacteroidetes* vs *Firmicutes*, siendo opuesto a lo observado en un PD tipo Occidental (9,10,21–26).

Además, las diferencias o cambios en la composición de la MI se han asociado con diversos efectos en la fisiología y el metabolismo del hospedero. En un inicio, se demostró que alteraciones en la composición de la MI, podían incrementar la acumulación de grasa corporal e influir en la presencia de complicaciones metabólicas. En este sentido, estudios posteriores en humanos han observado que la menor riqueza de la MI, se asocia con mayores niveles en los biomarcadores de RI (6,28–31).

Actualmente, se ha propuesto que la interacción entre la dieta, la MI y el fenotipo metabólico (sobrepeso-obesidad, RI, Síndrome Metabólico o parámetros metabólicos) puede ser evaluada mediante dos hipótesis. La primera, considera a la MI como un mediador entre la dieta y el fenotipo metabólico, es decir, la dieta puede influir directamente sobre la composición o función de la MI y esto, posteriormente puede alterar el metabolismo del hospedero. La segunda hipótesis, considera a la MI como un modificador del efecto que tiene la dieta sobre el fenotipo, es decir, el efecto de la dieta sobre el metabolismo depende del perfil o patrón de la MI. Dentro de la primera hipótesis, son pocos los estudios observacionales en humanos que han evaluado esta relación, especialmente considerando el consumo de la dieta habitual. Sin embargo, a través de estudios de intervención se ha reportado que la MI puede ser un mediador del efecto entre el consumo de diferentes dietas y la presencia o severidad de complicaciones metabólicas (11,30).

Dentro de la segunda hipótesis, donde el perfil de la MI podría influenciar la respuesta del hospedero a diferentes tipos de dietas y con ello, el efecto sobre el fenotipo como la obesidad o complicaciones metabólicas, se han propuesto distintas clasificaciones de los individuos conforme a su MI. Por un lado, se ha utilizado la diversidad, donde Menni C., y colaboradores observaron que solo en sujetos clasificados en el tercer tercil de la diversidad Shannon, la ingesta de FD se asoció con menor riesgo de ganancia de peso (OR = 0.954, CI 95 %: 0.92 – 0.98, p = 0.003). En contraste, en los sujetos en el primer tercil del índice de Shannon, no se observó este efecto. Otra clasificación de la MI, es a través de los enterotipos, que se refieren a patrones de variación de la MI agrupados en conglomerados, que han sido nombrados según el género más abundante dentro de estos, como *Prevotella* y *Bacteroides*. De manera interesante en un estudio experimental aleatorizado, los adultos clasificados con el enterotipo *Prevotella* tuvieron una mayor pérdida de peso corporal (3.5 kg) en respuesta a una dieta alta en FD, mientras que en personas con

un enterotipo *Bacteroides* no hubo diferencia en el peso. Sin embargo, este tipo de evidencia ha sido poco reportada en niños (10,31–33).

Considerando el incremento en la prevalencia de sobrepeso-obesidad y complicaciones metabólicas, como la RI y las dislipidemias en niños mexicanos, el estudio en conjunto de los patrones de la dieta habitual, la MI y el fenotipo metabólico en estos, es particularmente relevante. Esto podría ayudar al desarrollo de futuras recomendaciones nutricias en niños, encaminadas a la modificación de la MI y con ello, al fenotipo metabólico. Además, se podría considerar la intervariabilidad de la MI como un componente en la evaluación nutricia para mejorar la eficiencia de las intervenciones dietarías, que ayuden a prevenir, controlar o tratar diferentes enfermedades metabólicas.

2. Antecedentes

2.1. Sobrepeso y obesidad

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la obesidad y el sobrepeso se definen como la acumulación anormal o en exceso de grasa que puede provocar un daño a la salud. Desde 1980, la prevalencia de sobrepeso y obesidad ha incrementado a nivel mundial. En niños y adolescentes de 5 a 19 años esta prevalencia incrementó de manera alarmante de un 4 % en el año 1975 a un 18 % en el año 2016 (13,14).

En México, entre los años 1999 y 2018, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en los niños de 5 a 11 años incrementó de un 26.85 % a un 35.6 %. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición reportó en el 2018, en comparación con el año 2012, un 18.1 % vs 19.8 % de sobrepeso y un 17.5 % vs 14.6 % de obesidad en este mismo grupo de edad. Esto resalta la importancia del estudio de la obesidad y sus factores de riesgo, ya que se ha reportado que hasta un 28 % de las muertes pueden ser atribuidas a complicaciones provenientes de la obesidad en México (3,34).

La obesidad es una enfermedad multifactorial, resultado de las interacciones entre diferentes factores complejos y dinámicos, que en conjunto conforman un ambiente obesogénico. En los niños uno de los factores más relevantes es la dieta, mientras que otro, evaluado de manera reciente es la composición y funcionalidad de la MI (3,22,23,35).

Para el estudio e identificación de la presencia de sobrepeso y obesidad se utiliza el Índice de Masa Corporal (IMC), el cual evalúa la relación del peso corporal en kilogramos y la estatura en metros al cuadrado. La clasificación para niños y adolescentes, se basa en percentiles del IMC por los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), que consideran además el sexo y la edad (Tabla 1) (14).

Tabla 1: Rangos para la clasificación del peso en niños y adolescentes según los CDC.

Categoría del peso	Rango del percentil
Bajo peso	< 5 percentil
Normal o peso saludable	Percentil 5 hasta < percentil 85
Sobrepeso	Percentil 85 hasta < percentil 95
Obesidad	≥ Percentil 95

Referencia: Centros para el control y Prevención de Enfermedades (CDC) (14).

2.2. Complicaciones metabólicas asociadas al sobrepeso y obesidad en niños

El sobrepeso y la obesidad incrementan la prevalencia de enfermedades como la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), las enfermedades cardiovasculares y

diferentes cánceres. Así mismo, los niños con obesidad tienen un mayor riesgo de presentar obesidad en la edad adulta, promoviendo el desarrollo de aterosclerosis temprana, hipertensión arterial, RI, DMT2 o Síndrome Metabólico en edad adulta. Por ello, es importante el estudio de estas complicaciones en niños, con la finalidad de prevenir la progresión hacia la edad adulta (1,2,15).

2.2.1. Resistencia a la insulina: Se refiere a una alteración biológica sobre la transducción en la señalización de la insulina, que es insuficiente para regular de manera adecuada los procesos fisiológicos y con ello la homeostasis de glucosa en tejidos específicos como el hígado, el musculo y el tejido adiposo. Además, la RI altera la disponibilidad de glucosa hacia el interior de las células, resultando en un incremento compensatorio de insulina por parte de las células β del páncreas, llamado hiperinsulinemia (36,37).

En niños, el método más utilizado para la evaluación de la RI es el Modelo de Evaluación de la Homeostasis de la Resistencia a la Insulina o HOMA-IR (por sus siglas en inglés). Sin embargo, los cortes utilizados no son consistentes, y pueden ir desde 1.14 hasta 5.56. Aunque en México la prevalencia de la RI en niños y adolescentes ha sido poco evaluada, en un estudio en niños entre 12 a 16 años reportaron una prevalencia de RI de aproximadamente un 16 %, evaluada por un percentil > 85 del valor de HOMA-IR (15,18).

2.2.2. Dislipidemias: Se considera dislipidemia cuando uno o más de los lípidos en sangre, como TG, CT y c-LDL, se encuentran en niveles altos, o cuando el c-HDL está en niveles bajos (Tabla 2) (38).

Tabla 2: Cortes de referencia de colesterol total, c-LDL, c-HDL y triglicéridos en niños.

	Aceptable	Límite superior	Nivel alto
Colesterol total	< 170	170 - 199	> 200
c-LDL	< 110	110 - 129	> 130
Triglicéridos:			
0 - 9 años	< 75	75 - 99	> 100
10 - 19 años	< 90	90 - 129	> 130
	Aceptable	Límite superior	Bajo
c-HDL	> 45	40 - 45	< 40

Referencia: Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Risk Reduction on lipid screening in Childhood and Adolescence (39).

Aunque pocos estudios en niños mexicanos han reportado la prevalencia de dislipidemia, un estudio realizado en Nuevo León en niños de 2 a 10 años se observó que el 54.3 % de los niños presentó alguna dislipidemia. Además, se identificó que el tipo de dislipidemia más común fue la hipertrigliceridemia (de manera aislada 10.6 % y combinada 26.2 %), seguida de la hipoalfalipoproteinemia (10.0 % de manera

aislada). Además, este grupo de investigadores reportó que el riesgo de presentar dislipidemia fue mayor en niños con obesidad (OR: 2.73, IC 95 %: 1.41 – 5.55) a diferencia de los niños normopeso (40).

2.2.3. Síndrome Metabólico: Es un conjunto de alteraciones metabólicas cuya patogénesis aún se encuentra en debate. Los 5 componentes que definen al Síndrome Metabólico son: La elevación en los niveles de insulina o glucosa, la obesidad central evaluada mediante la circunferencia de cintura, el aumento en los niveles de TG, el aumento en la presión arterial (sistólica, diastólica o ambas) y, la disminución en los niveles de c-HDL (41,42).

Actualmente en niños, no existe un consenso para la definición de los valores de cada componente para el Síndrome Metabólico. Sin embargo, los cortes establecidos por De Ferranti, y colaboradores, (Tabla 3), con base en las referencias del ATP III, han sido previamente utilizados en otros estudios (43).

Tabla 3: Cortes de referencia para el establecimiento del Síndrome Metabólico en niños.

Variables	Valores para niños
Hipertrigliceridemia	≥ 100 mg / dl
c-HDL	< 50 mg / dl
Glucosa en ayuno	≥ 110 mg / dl
Obesidad central (CC)	> percentil 75 (por edad y sexo)
Hipertensión	> percentil 90 (por edad, sexo y altura)

Referencia: De Ferranti., y colaboradores (43).

En los últimos años el incremento en la prevalencia de obesidad en niños, se ha acompañado del aumento en el Síndrome Metabólico, sobre todo en países en desarrollo. En México, se ha reportado que 1 de cada 5 niños y adolescentes presentan Síndrome Metabólico, en donde el componente con mayor prevalencia es la hipoalfalipoproteinemia (44).

2.3. La importancia de la dieta en la presencia de sobrepeso, obesidad y complicaciones metabólicas en niños

2.3.1. Transición alimentaria en México

El aumento en la prevalencia de sobrepeso y obesidad en población mexicana surge generalmente, por un mayor consumo energético, dando como resultado un balance positivo y con un ello, el aumento del peso corporal (17,45).

Este balance energético positivo ha sido favorecido por un cambio en la alimentación conocido como transición alimentaria. Desde el año 1988 y hasta 1999, se observó un incremento en el consumo de carnes y azúcares refinados, así como

una disminución en el consumo de alimentos ricos en fibra como las frutas y verduras (Figura 1), lo cual ha persistido hasta años recientes. Por ello, en un principio, los esfuerzos para disminuir el incremento en la prevalencia del sobrepeso y la obesidad a través de la dieta se enfocaron en el control individual del consumo de nutrientes como grasas, carbohidratos y proteínas. Sin embargo, esta estrategia ha sido poco efectiva (17,46).

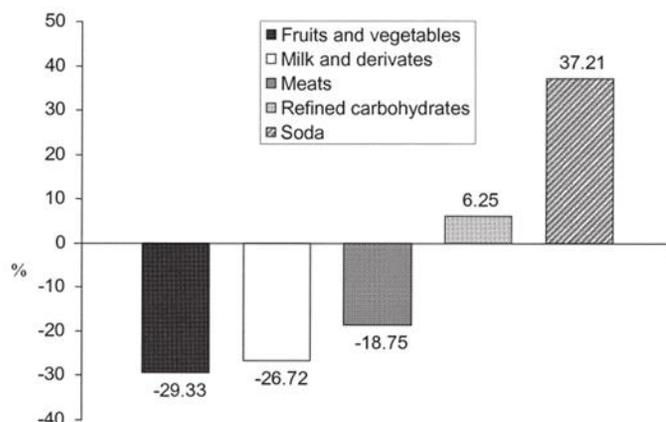


Figura 1: Cambio en el consumo de alimentos en población mexicana. Incremento en el consumo de alimentos ricos en azúcar y carbohidratos refinados, y disminución en el consumo de carnes, leche y derivados, alimentos ricos en fibra como frutas y verduras en población mexicana. **Referencia:** Tomada de Rivera JA, 2004 (17).

2.3.2. Patrones dietarios

En la actualidad el enfoque hacia la dieta habitual, a través de PD permite evaluar en conjunto el efecto de alimentos y nutrientes que forman parte de la dieta del individuo de manera regular. Además, los PD han sido utilizados para desarrollar estrategias que permitan prevenir o disminuir la presencia de complicaciones metabólicas (5,47–49).

La dieta habitual durante la infancia y la edad escolar puede influir en el crecimiento, el desarrollo y la salud del niño. En este sentido, determinados PD pueden inducir alteraciones metabólicas a temprana edad y tener un impacto negativo sobre el estado de salud en la edad adulta. Por lo cual, resulta importante identificar el consumo de PD en esta población. Algunos PD identificados en este grupo de edad han sido el “Occidental”, el “Saludable”, aquellos con un estilo de dieta “Mediterránea”, “Tradicionales”, “Ricos en Carne y Altos en Grasa”, entre otros (5,20,50,51).

2.3.3. Patrones dietarios en la obesidad

Estudios epidemiológicos en diferentes países en desarrollo han identificado que el PD de tipo Occidental, caracterizado por un menor consumo de frutas y verduras, y mayor consumo de sodio, azúcar, grasa animal y azúcares añadidos contribuye al incremento en el peso corporal (5).

En niños mexicanos de 5 a 11 años, el mayor consumo de un PD Occidental (caracterizado por el consumo de cereales, bebidas con azúcar, pasteles, grasa y snacks) y/o de un PD de Cereales dulces y platillos a base de maíz altos en grasa (caracterizado por el consumo de cereales, cereales dulces, platillos con maíz, dulces, lácteos, y leche baja en grasa), se asoció con mayor riesgo de presentar sobrepeso y obesidad en un 35 % (CI 95 %: 1.17 – 2.19) y un 29 % (CI 95 %: 1.09 – 1.94), respectivamente (52).

De manera similar, en niños y en adolescentes mexicanos el consumo de un PD Mexicano modificado (caracterizado por el consumo de cereales, productos lácteos, azúcares-dulces y postres) se asoció con mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad. En contraste, en niños con un mayor consumo de un PD Tradicional (caracterizado por el consumo de leguminosas, verduras, snacks, salsas y condimentos) y/o con un PD de Dieta mexicana alternativa (con un mayor consumo de pescado y verduras) la prevalencia de sobrepeso y obesidad fue menor (20,53).

Además, también se observó en adolescentes mexicanos con un consumo en el tercer tercil de un PD Prudente o Saludable (alto en el consumo de verduras, leguminosas, nueces y semillas, frutas y cereales de grano entero) una menor proporción de sobrepeso y obesidad (9.60 %), en comparación con los niños que reportaron un consumo en el primer tercil de este PD, donde se encontró una mayor proporción de sobrepeso u obesidad (59.60 %; $p < 0.05$). Este PD Saludable o Prudente ha sido relacionado de manera consistente con beneficios sobre el fenotipo metabólico en adultos (5,20).

Al igual que en México, en otros países como China, Australia y Alemania, los PD tipo Occidental y de Comida rápida se han caracterizado por un mayor consumo de carnes rojas, carnes procesadas, azúcares, postres, snacks, y se han asociado con un mayor porcentaje de obesidad. Lo que sugiere que estos PD pueden incrementar la prevalencia de la obesidad independientemente del lugar geográfico en el que se evalúe, siendo relevante la identificación de éstos con la finalidad de contrarrestar mediante otros PD, el desarrollo de enfermedades o complicaciones metabólicas (54,55).

2.3.4. Patrones dietarios y complicaciones metabólicas

La evaluación de los PD también ha contribuido al entendimiento del efecto de la dieta sobre la presencia de complicaciones metabólicas, el Síndrome Metabólico, la inflamación de bajo grado y la DMT2 (56–58).

Los adultos con un mayor consumo de un PD de Grasas y azúcar presentan mayores niveles de CT, c-LDL, TG y glucosa en ayuno, a diferencia de los sujetos que tienen un menor consumo de este PD. En contraste, los sujetos con un mayor consumo de un PD Saludable presentan menores niveles de presión arterial

diastólica, c-LDL, TG y glucosa en ayuno. Por lo que, el consumo de este PD Saludable se ha considerado como una estrategia para la disminución de complicaciones metabólicas (5,59–62).

En el caso del Síndrome Metabólico, un metaanálisis en adultos observó que el consumo de un PD Saludable se relacionó tanto con menor presencia de este síndrome como con un efecto protector para el desarrollo de este (OR: 0.83; IC 95 %: 0.76 – 0.90). Los grupos de alimentos que caracterizaron al PD Saludable fueron: verduras, frutas, frutas secas, cereales de grano entero, lácteos bajos en grasa, pescado, aves de corral, nueces, leguminosas, huevo, productos de soya y té (57).

De manera interesante, derivado de este tipo de estudios, se han generado PD para la disminución en los niveles de hipertensión arterial y otras complicaciones metabólicas. Un ejemplo es la dieta DASH, por sus siglas en inglés (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*), caracterizada por un consumo diario de 1500-2300 mg de sodio, 6 a 8 porciones de cereales, 6 o menos porciones de carnes (incluyendo pescado, cerdo y res), 4 a 5 porciones de verduras y frutas, 2 a 3 porciones de productos lácteos, 2 a 3 porciones de grasas y aceites, 4 a 5 porciones de nueces y semillas, y menos de 5 porciones de azúcares, la cual ha sido una de las estrategias más empleadas para el manejo de complicaciones metabólicas. Otro de los PD relacionado con efectos benéficos sobre diferentes complicaciones metabólicas es la dieta Mediterránea, la cual es caracterizada por el consumo de 1 a 2 porciones de frutas, 2 o más porciones de verduras, 1 a 2 porciones de cereales integrales por comida principal; 1 o 2 porciones de aceite de oliva, nueces o semillas y 2 porciones de productos lácteos bajos en grasa diariamente, y 2 porciones de carne blanca, menos de 2 porciones de carne roja o procesada, 2 o más porciones de leguminosas, 2 a 4 porciones de huevo y menos de 2 porciones de azúcares a la semana (63–65).

2.4. Microbiota intestinal

La MI es una comunidad de microorganismos comensales, simbioses y patógenos, que se encuentra en el intestino. En humanos la microbiota del tracto gastrointestinal comprende hasta 10^{14} de microorganismos que funcionan colectivamente como un órgano que comunica y complementa el metabolismo del hospedero. El estudio de la MI y su relación con el hospedero implica diferentes perspectivas, que abarcan desde la composición taxonómica, la riqueza y diversidad, hasta la funcionalidad de la misma (22,66–69).

La estructura y composición de la MI entre individuos responde a diversos factores ambientales como la región geográfica, la dieta y el estilo de vida, entre otros. Esto resulta en variabilidad significativa entre individuos y poblaciones, que afectará diferencialmente la fisiología y el metabolismo del hospedero. Incluso se ha

postulado que esta intervariabilidad debe ser contemplada para el estudio de la interacción entre la dieta, la MI y el metabolismo de los hospederos. En este sentido, en el año 2011, Arumugam M., y colaboradores, identificaron en sujetos de diferentes países (Francia, Italia, España y Dinamarca) perfiles o patrones de la MI. Específicamente mediante el agrupamiento de las abundancias relativas a nivel de género y, usando la distancia de Jensen-Shannon y el algoritmo de Partición alrededor de Medoides (Partitioning Around Medoids, PAM, por sus siglas en inglés), identificaron conglomerados a los cuales denominaron enterotipos. Éstos fueron representados principalmente por los géneros: *Bacteroides*, *Prevotella* y *Ruminococcus* que, pudieron ser identificados a pesar del lugar de procedencia de los sujetos, la edad y el sexo. Desde entonces, se ha postulado que los enterotipos pueden utilizarse para estratificar a la población, y con ellos disminuir la variación interindividual comúnmente observada en el fenotipo en estudios clínicos. Esto permite realizar agrupaciones de los sujetos según el enterotipo de la MI y evaluar si diversas dietas pudieran influir diferencialmente en el metabolismo del hospedero. Por lo que, esto pudiera considerarse también como una nueva estrategia para mejorar los tratamientos específicos o personalizados según el perfil de la MI (31,70,71).

2.4.1. Patrones dietarios en relación con la microbiota intestinal

Estudios observacionales sobre la dieta habitual, así como estudios de intervención donde evalúan la dieta a corto plazo, han observado que ésta influencia de manera significativa la composición y la diversidad de la MI (9,10,72,73).

Uno de los primeros estudios para evaluar el papel de la dieta habitual sobre la MI en humanos, fue a través de la evaluación de la frecuencia del consumo de determinados alimentos y nutrientes. Zhernakova A., y colaboradores, reportaron que el mayor consumo de frutas, verduras y productos lácteos, que han sido considerados en otros estudios dentro de PD Saludables o Prudentes, correlacionaron con mayor diversidad alfa de la MI. A pesar de esto, no fueron los únicos alimentos que contribuyeron al explicar la variación en la estructura de la MI, lo que sugiere que el estudio de los PD podría ser relevante para evaluar los efectos del conjunto de alimentos y nutrientes sobre la MI (74).

Aunque actualmente son pocos los estudios que han evaluado el papel de la dieta habitual con la composición de la MI, dos tipos de PD relacionados de manera importante con la MI, son el tipo Occidental y las dietas altas en el consumo de FD. El primer PD está descrito como una dieta alta en el consumo de alimentos de origen animal y grasas, y baja en carbohidratos metabólicamente disponibles para la MI (MACs, por sus siglas en inglés), como la FD. El consumo de este PD se ha relacionado con poblaciones urbanas o industrializadas y que, de manera

concomitante, presentan una menor diversidad alfa de la MI. Por ello, se ha propuesto que los PD tipo Occidental podrían promover en el largo plazo una menor diversidad de la MI y con ello, la posible extinción de bacterias implicadas en el metabolismo de la FD (22,23,72,75–77).

En contraste, el segundo PD, alto en el consumo de FD, y que se ha relacionado con el tipo de alimentación de poblaciones rurales o no industrializadas, se ha reportado que puede promover una mayor diversidad alfa de la MI, que además se ha asociado con un mejor fenotipo metabólico (22,23,76).

Una limitante de los estudios anteriores es que la comparación de los PD y su relación con la MI, se ha evaluado mayormente en poblaciones contrastantes como la urbana o industrializada vs la rural o no industrializada, que además de diferir en el tipo de dieta tienen estilos de vida muy distintos. Por ello, aunque las diferencias en la MI pueden ser en parte explicadas por la dieta habitual, también pueden ser resultado del efecto de otros factores ambientales de la propia región o de las costumbres dentro de esta. Por lo tanto, es necesario el estudio en poblaciones homogéneas o dentro de un mismo país que estén expuestas a factores ambientales similares, con la finalidad de determinar la magnitud de la influencia de la dieta habitual sobre la MI (23,78,79).

De manera interesante, en estudios observacionales también se ha reportado que los enterotipos de la MI como *Bacteroides* y *Prevotella* pudieran caracterizarse por el consumo de determinados alimentos. En este sentido la dieta de las personas con enterotipo *Bacteroides* se ha caracterizado por el consumo de PD altos en proteína y grasa animal, y bajos en el consumo de FD. Mientras que las personas con un enterotipo tipo *Prevotella*, se han caracterizado por dietas altas en el consumo de carbohidratos, FD, y almidón resistente, lo que pudiera tener implicaciones distintivas en el fenotipo metabólico. Resaltando la importancia en la evaluación de la dieta habitual en estudios observacionales (31,80,81).

2.4.2. Microbiota intestinal en la obesidad

Desde hace poco más de 13 años, la obesidad se ha relacionado con cambios en la composición de la MI, una menor diversidad alfa y alteraciones en la expresión de genes bacterianos. Uno de los primeros hallazgos fue realizado por Bäckhed F., y colaboradores, en el año 2004, donde observaron que ratones con MI tuvieron un 42 % más grasa corporal en comparación con ratones estériles o libres de bacterias. Esto sugirió por primera vez una relación entre la MI y la acumulación de grasa corporal. A partir de entonces, la MI se ha estudiado como una estrategia potencial para la disminución en la prevalencia de sobrepeso y obesidad (27,28).

Diversos estudios han mostrado una asociación entre la composición de la MI y la obesidad, particularmente un mayor índice entre los *phyla*

Firmicutes: Bacteroidetes, lo cual también ha sido observado en niños mexicanos. Una posible explicación radica en que en el *phylum Firmicutes* hay una mayor cantidad de bacterias con enzimas para la degradación y la fermentación de carbohidratos complejos, los cuales pueden ser aprovechados por el hospedero, obteniendo así una mayor extracción de energía de la dieta. Sin embargo, en otros estudios este resultado aún es controversial, posiblemente debido a diferentes factores ambientales que rodean a cada población (7,25,26,82).

Otros autores han observado una menor diversidad alfa de la MI, en sujetos con obesidad, en comparación con sujetos en normopeso y, se ha estimado que en promedio los sujetos con obesidad tienen 7.47 % menos riqueza, 0.88 % menos equidad y 2.07 % menos diversidad microbiana. Sin embargo, al igual que en el caso de la taxonomía, los resultados anteriores han sido controversiales. En un estudio donde compararon la riqueza (presencia o ausencia de bacterias) entre niños con sobrepeso vs normopeso, se observó interesantemente un comportamiento bimodal de la diversidad solo en niños con menor o mayor sobrepeso. Es decir, los niños con mayor sobrepeso tuvieron menor riqueza de la MI, en comparación con aquellos con menor sobrepeso. Mientras que, en niños con normopeso no se observó este comportamiento. Esto sugiere que la riqueza puede ser afectada según la severidad del estado nutricional, y que puede haber otros factores interindividuales o ambientales, como la dieta, que pudieran estar influyendo sobre la MI y el fenotipo metabólico (25,27,32,68,82–85).

Además, en países industrializados, donde generalmente hay mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad, se ha observado una menor diversidad de la MI, comparado con poblaciones tradicionales o no industrializadas. Esto se ha relacionado con la dieta y otros factores ambientales. Sin embargo, esto ha sido menos estudiado en países en vías de desarrollo como México (24,77,85,86).

Diversos estudios han propuesto que la composición y la funcionalidad de la MI pueden contribuir a la regulación energética del hospedero y con ello, a la presencia de sobrepeso y obesidad. Particularmente se ha postulado que metabolitos bacterianos como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y los aminoácidos, pueden ser posibles intermediarios involucrados en la ganancia o pérdida de peso y en la acumulación de grasa corporal (27,28,87,88).

En este sentido, los AGCC pueden afectar el metabolismo del hospedero al unirse y activar a los receptores acoplados a proteínas G (GPCRs, por sus siglas en inglés) como GPR43 y GPR41 en células epiteliales, en tejido muscular, tejido adiposo y en hígado. En el caso particular del butirato, contribuye al 70 % de los requerimientos energéticos de los colonocitos, siendo una de las principales fuentes de energía para éstos, al haber un alto consumo de FD. Este AGCC se ha relacionado con la pérdida de peso, ya que puede inducir la actividad de PGC1-alfa (coactivador gamma del receptor activado por proliferador de peroxisomas 1 alfa),

coactivador relacionado con la regulación de genes del metabolismo energético, por lo que puede mejorar la función mitocondrial de tejido adiposo marrón y así, promover el gasto energético y prevenir la RI. Además, se ha observado que este AGCC, así como el propionato, están involucrados en la producción de enterohormonas como el péptido similar a glucagón 1 (GLP-1) y el péptido YY (PYY). GLP-1 puede incrementar la secreción de insulina y PYY interviene en la respuesta anorexigénica en el sistema nervioso central. Por lo que, pueden ser importantes para la prevención y tratamiento de obesidad y RI (87,89–91).

2.4.3. Microbiota intestinal y el fenotipo metabólico

La MI también ha sido relacionada con otras enfermedades o complicaciones metabólicas, como la DMT2, los componentes del Síndrome Metabólico, las enfermedades cardiovasculares y la RI. En un primer acercamiento, realizado por Bäckhed, y colaboradores, observaron menores niveles de insulina y glucosa en ratones libres de MI, en comparación con los ratones que tenían MI propia. Indicando un efecto de la presencia de la MI en la sensibilidad a la insulina (28,69,92–94).

Estudios posteriores en humanos han observado que a nivel taxonómico la abundancia de algunas bacterias puede asociarse con rasgos metabólicos. En este sentido, la mayor abundancia de *Coriobacteriaceae*, familia del filum *Actinobacteria*, se ha asociado con obesidad, mayores niveles intrahepáticos de TG y plasmáticos de colesterol no HDL en adultos. Mientras que, la mayor abundancia del género *Lachnospira*, del *phylum Firmicutes* y productor de AGCC, se ha relacionado con mayor prevalencia de diabetes y Síndrome Metabólico, y a nivel de familia (*Lachnospiraceae*) con niveles altos de CT y c-LDL en humanos. Otro taxón que ha sido estudiado en gran medida es *Akkermansia muciniphila* (*A. muciniphila*), en donde su mayor abundancia o mediante su suplementación se han observado menores niveles de inflamación, menor presencia de diabetes y marcadores de la RI (95–101).

Otros estudios realizados en niños han observado correlaciones negativas de la AR de *Bacteroides* con los niveles séricos de TG, CT y proteína C-reactiva, así como correlaciones positivas entre la AR de *Prevotella* y los niveles de TG y proteína C-reactiva. Además, en niños y adolescentes mexicanos se observó que solo el grupo de adolescentes con obesidad presentó una asociación positiva entre los niveles de CT y mayor AR de *Ruminococcus*. Esto destaca que la taxonomía puede ser relevante en la relación con el fenotipo metabólico desde edades tempranas. Además, el estudio de la diversidad de la MI también se ha relacionado con mejor perfil metabólico en humanos. En este sentido, un estudio reportó en niños y adolescentes con obesidad una correlación negativa del índice de Shannon con los

niveles de HOMA-IR, lo que ha sido poco reportado en este grupo de edad (6,26,85,102).

Los mecanismos exactos por los que bacterias como *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Lachnospiraceae* y *Coriobacteriaceae* se asocian con los niveles de colesterol aún no son claros. Se sugiere que la MI puede ser esencial para la bioconversión de colesterol a ácidos biliares, así como para la absorción de estos últimos. Particularmente se ha observado que en ratones con la MI alterada, por el consumo de diferentes antibióticos, pueden activarse genes en hepatocitos que posteriormente condicionarán una mayor formación de ácidos biliares. Así mismo la activación de genes en los enterocitos puede incrementar la absorción del colesterol en el yeyuno. Además, en ratones con MI de mujeres con niveles altos de CT y c-LDL se observó que algunos géneros, como *Bacteroides*, se asociaron con la mayor expresión de genes para la absorción de colesterol, lo que podría contribuirse al incremento en los niveles de colesterol plasmático (103).

Por otro lado, moléculas como los patrones moleculares asociados a microbios (o microbes-associated molecular patterns) como los lipopolisacáridos (LPS) pueden promover procesos inflamatorios y con ello RI. Esto posiblemente debido a que el LPS, a través de la difusión por el epitelio intestinal, activa a los receptores tipo Toll 4 (TLR4) en músculo, hígado y tejido adiposo, así como la fosforilación de JNK, incrementando la inflamación de bajo grado. Este mecanismo se ha relacionado con alteraciones en la señalización de la insulina, dando como resultado el desarrollo de la RI. En contraste, se ha propuesto que *A. muciniphila* tiene efectos benéficos sobre la sensibilidad a la insulina. Uno de los mecanismos es a través de la regulación de las uniones estrechas entre las células epiteliales, las cuales intervienen en la integridad de la mucosa intestinal, evitando así que el LPS penetre y provoque una reacción de inflamación a través de la señalización del receptor TLR4 (96,99,101,104–107).

2.4.4. Relación entre los patrones dietarios, la microbiota intestinal y el fenotipo

Como se mencionó anteriormente la mayoría de los estudios que evalúan los PD, la MI y el fenotipo metabólico se han enfocado en comparaciones entre poblaciones Occidentales o urbanas y no-Occidentales o rurales. Particularmente se ha observado que poblaciones rurales o no-occidentales, al tener un menor consumo de alimentos como cereales refinados y mayor de FD, aunado a una mayor diversidad de la MI, pueden presentar menos complicaciones metabólicas. Sin embargo, la desventaja de este tipo de estudios es que existen otros factores ambientales que pudieran estar interviniendo sobre la composición de la MI y el

fenotipo metabólico, por lo cual el efecto de la dieta aun no es claro (22,24,29,78,79,108).

Aunque son pocos los estudios en niños y adolescentes que han evaluado el efecto de los PD sobre la MI y el fenotipo metabólico en una misma región, un estudio en Korea mostró que el consumo de un PD Modificado, enriquecido en papas, nueces y semillas, carne roja, pescado, aceite y grasas, se asoció con una mayor AR de *Prevotella*, en comparación con los niños con un consumo de un PD Tradicional, caracterizado por el consumo de carbohidratos, verdura, proteína vegetal y FD. De manera interesante, la abundancia de este taxón se asoció con un mayor riesgo de obesidad (OR = 1.018; IC 95 %: 1.004 – 1.032; p = 0.011). Esto contrasta con resultados previos donde el género *Prevotella* se ha asociado con mayor consumo de FD, y de dietas ricas en carbohidratos. Lo que sugiere que las inconsistencias en este tipo de hallazgos podrían deberse a otro tipo de factores (genéticos, geográficos, clínicos o incluso metodológicos) (30,51,109).

Por otro lado, en un estudio donde se evaluó la diversidad alfa de la MI, sugirió que el consumo habitual de dietas ricas en FD pudiera condicionar la menor ganancia de peso corporal, solo cuando los sujetos tienen una mayor diversidad de la MI. Además, también se ha sugerido que el consumo de una dieta con una mayor cantidad de frutas y verduras puede incrementar la riqueza de la MI, y relacionarse con menor presencia de dislipidemias y RI (evaluada a través del índice de HOMA-IR) (10,69).

La relación entre la MI y la RI, a nivel taxonómico se ha enfocado principalmente en *A. muciniphila*. Esta es una bacteria gram-negativa, degradadora de la mucosa intestinal, cuyo efecto sobre el fenotipo se ha postulado que es dependiente del consumo de FD. En este sentido, una dieta con restricción en el consumo de FD puede incrementar la AR de *A. muciniphila*, promoviendo la degradación de la mucosa intestinal. A su vez, esto puede aumentar la permeabilidad de la mucosa permitiendo el paso de bacterias patógenas, incrementando la inflamación de bajo grado y con ello, la RI en el hospedero. En otros casos, se ha reportado una mayor abundancia de *A. muciniphila* cuando hay un mayor consumo de FD. Además, estudios en modelos animales han reportado que la suplementación de *A. muciniphila* con dietas altas en grasa-sacarosa, puede tener un efecto protector hacia la mucosa intestinal y con ello disminuir la RI. Por ello, la interacción entre esta bacteria y la dieta parece ser relevante para dilucidar su efecto sobre el fenotipo, sin embargo su relación con el consumo de patrones de la dieta habitual en humanos aún no ha sido estudiado (94,99,106,107,110,111).

En la actualidad se ha descrito que la MI puede interactuar de diferentes maneras en la relación dieta-fenotipo metabólico planteando dos hipótesis. En la primera, la MI se posiciona como el mediador del efecto entre la interacción de la dieta y el fenotipo metabólico, como la ganancia de peso (Figura 2a), donde al

consumir un determinado tipo de dieta, la MI puede ser modificada en su composición y/o funcionalidad y esto condiciona el efecto sobre el fenotipo metabólico, siendo una interacción lineal entre la dieta-MI-fenotipo. En la segunda, el perfil o patrón de la MI se considera como modificador del efecto, debido a que puede ser el punto de partida sobre la interacción observada entre la dieta-fenotipo metabólico. Es decir, un patrón de la MI como los enterotipos, puede influir en la forma en que los individuos responden al tipo de dieta y por tanto, inducir cambios diferenciales en el fenotipo (Figura 2b) (6,11,30,31,112,113).

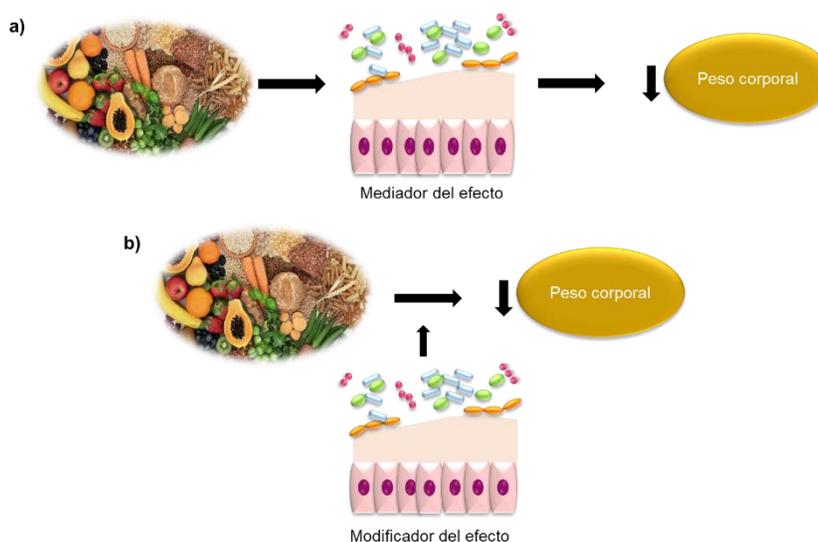


Figura 2: Esquema de la interacción de la microbiota intestinal como mediador del efecto o modificador del efecto entre la dieta-fenotipo metabólico. a) Mediador del efecto. La microbiota intestinal puede ser un mediador del efecto al ser modificada por el consumo de cierto tipo de dietas, esto tendrá un efecto sobre el fenotipo. b) Modificador del efecto. Dependiendo de la microbiota intestinal, ésta puede ser un modificador entre el efecto de la dieta sobre el fenotipo.

Un ejemplo de esta segunda hipótesis radica en que, en humanos se ha observado un efecto diferencial en la respuesta al consumo de un pan con fibra a base de cebada en los niveles de glucosa e insulina en ayuno. Debido a que, durante tres días del consumo del pan rico en cebada, una parte de los sujetos tuvieron menores niveles de insulina y glucosa, lo que fue acompañado de un incremento en la AR de *Prevotella*. Mientras que, otra parte de los sujetos no presentaron cambios en estos parámetros o en la AR de *Prevotella*. Por lo que, la capacidad responsiva de la MI a la dieta parece relacionarse con respuestas diferenciales en el fenotipo del hospedero (30,31).

En este sentido, el estudio de los enterotipos ha sido de especial atención para la determinación de un perfil de la MI antes de un tratamiento dietario. En un acercamiento, se observó que sujetos con un mayor índice *Prevotella:Bacteroides*, presentaron una disminución de grasa corporal en un periodo de 26 semanas en respuesta a una dieta alta en fibra (fruta, granos enteros y verduras). Mientras que,

en sujetos identificados con un índice bajo de *Prevotella:Bacteroides*, no hubo diferencias significativas en la pérdida de grasa corporal. Relación que también se ha observado con los niveles de CT y c-LDL (31,112,113).

El posible mecanismo que se ha descrito sobre la relación entre dietas altas en FD, la MI y el fenotipo metabólico, ha sido atribuido en parte, a la capacidad de la MI de degradar la FD. Esta degradación se asocia con la producción de metabolitos como los AGCC, principalmente el acetato, propionato y butirato, cuya producción depende del perfil de la MI y el tipo de FD consumida. En este sentido, en un estudio *in vitro* se observó que la MI de un sujeto del enterotipo *Prevotella* y en presencia de compuestos que forman parte de la fibra insoluble (como los arabinosilanos) incrementó la producción de propionato, a diferencia de la MI de un sujeto del enterotipo *Bacteroides*. Además, estos AGCC pueden modular el metabolismo energético, la gluconeogénesis, la oxidación de ácidos grasos y la lipogénesis, así como estimular a las enterohormonas que intervienen en el eje intestino-cerebro, resaltando la importancia de éstos metabolitos sobre el hospedero (31,87).

Por lo anterior, resulta de gran interés el estudio de la dieta habitual en niños de población mexicana, su interacción con la MI y su relación con rasgos metabólicos, como el sobrepeso, la obesidad y complicaciones metabólicas asociadas. Esto podría contribuir al conocimiento actual en la nutrición con el fin de diseñar posibles estrategias para la prevención de complicaciones metabólicas como las dislipidemias, hipertensión y RI desde edades tempranas que incorporen el papel de la MI.

3. Justificación

El incremento en la prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños escolares mexicanos en los últimos 25 años se ha convertido en un problema de Salud Pública. Esto es de gran importancia, debido a que la obesidad en edades tempranas tiene consecuencias a largo plazo sobre la salud del sujeto. En parte, se sabe que el incremento en la prevalencia ésta ha sido explicado por la transición en el consumo de alimentos en México, que incluye la disminución en el consumo de alimentos ricos en fibra (frutas, verduras, frijoles, cereales de grano entero) y el incremento en alimentos ricos en grasas, azúcares y alimentos industrializados. Sin embargo, han sido pocos los estudios que demuestran mejorías en la salud de los niños con obesidad al aplicar diversos tratamientos (3,114–116).

Por ello, se han buscado nuevas estrategias en el área de nutrición, que permitan prevenir y disminuir el sobrepeso y obesidad en niños. Una de ellas es a través de la interacción con la MI, debido a que actualmente es considerada un factor que influye sobre el estado nutricional, como el normopeso y obesidad, y el fenotipo metabólico de los sujetos. Otra estrategia se ha enfocado en el estudio de la dieta habitual, debido a que los humanos no consumen nutrimentos aislados, sino un conjunto de estos. En este sentido, las dietas habituales tipo saludables, tradicionales o rurales ricas en FD, así como las tipo occidentales o urbanas, con alto contenido de grasas y proteínas, se han relacionado perfiles diferenciales de la MI y de manera concomitante con el fenotipo metabólico (5,7,24,49,78–80,106).

Hasta el momento los estudios que evalúan la dieta habitual, la MI, el fenotipo metabólico (sobrepeso-obesidad, las dislipidemias, la RI, el Síndrome Metabólico y parámetros metabólicos, como glucosa, insulina, lípidos, entre otros) en niños escolares aún son escasos y poco consistentes. Por ello, dado el incremento en la prevalencia de sobrepeso--obesidad y enfermedades crónicas en este grupo de edad, especialmente en población mexicana, es de gran importancia la evaluación de esta interacción con el fin de diseñar tratamientos dietarios para el manejo o prevención del sobrepeso-obesidad y complicaciones metabólicas (31,32). Por todo lo anterior, nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cómo es la interacción entre la dieta habitual, la MI y el fenotipo metabólico en niños escolares mexicanos?

4. Hipótesis

Hipótesis de investigación: La dieta habitual del tipo saludable se asociará con mayor diversidad y/o con perfiles de la MI que se relacionarán con la presencia de normopeso, mejores niveles en los parámetros metabólicos y menor proporción de complicaciones metabólicas.

Hipótesis nula: La dieta habitual del tipo saludable no se asociará con mayor diversidad y/o perfiles de la MI, o con la presencia de normopeso, mejores niveles en los parámetros metabólicos y menor proporción de complicaciones metabólicas.

5. Objetivos

Objetivo general: Evaluar la interacción de la dieta habitual con la estructura de la MI, y su relación con el estado nutricional y metabólico en población infantil mexicana.

Objetivos específicos:

1. Identificar PD en niños mexicanos en edad escolar.
2. Asociar los PD con los rasgos y/o complicaciones metabólicas de los niños escolares.
3. Evaluar la relación entre los PD y la estructura de la MI.
4. Describir las relaciones entre la estructura de la MI y los rasgos y/o complicaciones metabólicas en niños mexicanos escolares.
5. Determinar la relación entre la dieta habitual, la estructura de la MI y los rasgos y/o complicaciones metabólicas.
6. Inferir la funcionalidad de la MI con la dieta habitual y la posible asociación con los rasgos y/o complicaciones metabólicas.

6. Metodología

6.1. Diseño del estudio

Diseño: Estudio transversal.

Población por estudiar: Niños escolares de la Ciudad de México que asistieron a la Convivencia Infantil (2013 - 2015), del Sindicato Nacional de Trabajadores de la Secretaría de Salud.

Muestra de estudio: Niños de 5 a 12 años. Submuestra del estudio de investigación “Estudio de asociación de la MI con la obesidad y sus complicaciones metabólicas en población infantil mexicana”.

Técnica de muestreo: No probabilístico por conveniencia.

6.2. Criterios de selección

Inclusión:

- Consentimiento informado firmado por los padres o tutores del niño.
- Encuestas de niños con datos de alimentación.

Exclusión:

- Datos de alimentación mal contestados o incompletos.
- Datos de alimentación de niños que asistieron más de una vez a las convivencias.
- Consumo de kilocalorías totales mayor a + 2.5 desviaciones estándar (DE) de la media.

Eliminación:

- Sin datos completos de los grupos de alimentación, después de aplicar el filtro de calidad con un consumo mayor al percentil 95 de los grupos de alimentos.
- Enfermedades crónicas reportadas por los padres o tutores como hiperinsulinismo, diabetes, enfermedad de la tiroides, cáncer, enfermedades renales y hepáticas.
- Para el análisis con la MI se eliminaron los niños que no tuvieran disponible materia fecal para realizar la secuenciación o que reportaron haber consumido antibióticos en los 3 meses previos o el día de la toma de muestra fecal.

6.3. Evaluación de datos demográficos y personales del niño

6.3.1. Encuesta clínico–demográfica. La encuesta incluyó datos heredofamiliares de ambos padres y de los niños, antecedentes perinatales. de actividad física y educativos.

6.3.2. Evaluación de la dieta. Se realizó mediante una EFCA, previamente validada (117). Ésta permitió coleccionar la información de la dieta habitual del último

año de los niños (118). La encuesta contiene 97 alimentos clasificados en 10 grupos de alimentos (GA) y fue contestada por los padres de familia o tutores de los niños (Tabla 4).

Tabla 4: Grupos de alimentos incluidos en la Encuesta de Frecuencia de Consumo de Alimentos.

No.	Grupos de alimentos	No.	Grupos de alimentos
1	Frutas	6	Cereales
2	Verduras	7	Alimentos de Origen Animal
3	Golosinas	8	Leguminosas
4	Antojitos	9	Productos lácteos
5	Bebidas	10	Grasas

La EFCA, tiene 10 opciones de frecuencias del consumo de alimentos: “Nunca”, “Menos de una vez al mes”, “De 1 a 3 veces al mes”, “1 vez a la semana”, “De 2 a 4 veces a la semana”, “De 5 a 6 veces a la semana”, “1 vez al día”, “De 2 a 3 veces al día”, “De 4 a 5 veces al día”, “6 veces al día”. Para la identificación del consumo de nutrientes y PD a partir de la EFCA se utilizaron dos metodologías: Semi-cuantitativa y cuantitativa.

En el método semi-cuantitativo se obtuvo un factor de consumo al día por alimento con base en la respuesta de la EFCA (Tabla 5) (117,119). El método cuantitativo se realizó a través del software de SNUT (120), el cual, mediante una base de datos prediseñada, calcula las kilocalorías, gramos y miligramos de diferentes nutrientes por día. Los nutrientes fueron estandarizados por el consumo de 1000 kilocalorías por día.

Tabla 5: Factores según la frecuencia de consumo al día de la Encuesta de Frecuencia de Consumo de Alimentos.

Frecuencias	Codificación original	Divisor (no. de días)	Factores de consumo por día
Nunca	A	0	0
Menos de una vez al mes	B	45	0.022
De 1 a 3 veces al mes	C	30	0.067
1 vez a la semana	D	7	0.143
2-4 veces a la semana	E	7	0.429
5-6 veces a la semana	F	7	0.786
1 vez al día	G	1	1
2-3 veces al día	H	1	2.5
4-5 veces al día	I	1	4.5
6 veces al día	J	1	6

6.3.2.1. Filtros para la evaluación de la dieta. Los resultados obtenidos de la EFCA fueron filtrados para evitar valores extremos de los nutrientes. En total, se obtuvieron datos de 886 niños. De estos, 110 niños fueron excluidos debido a que su encuesta tuvo más del 10 % (11 ítems de alimentos) del total de alimentos sin

contestar (121) y, 135 niños debido a que asistieron a dos o más convivencias entre los años 2013 y 2015 (Figura 3).

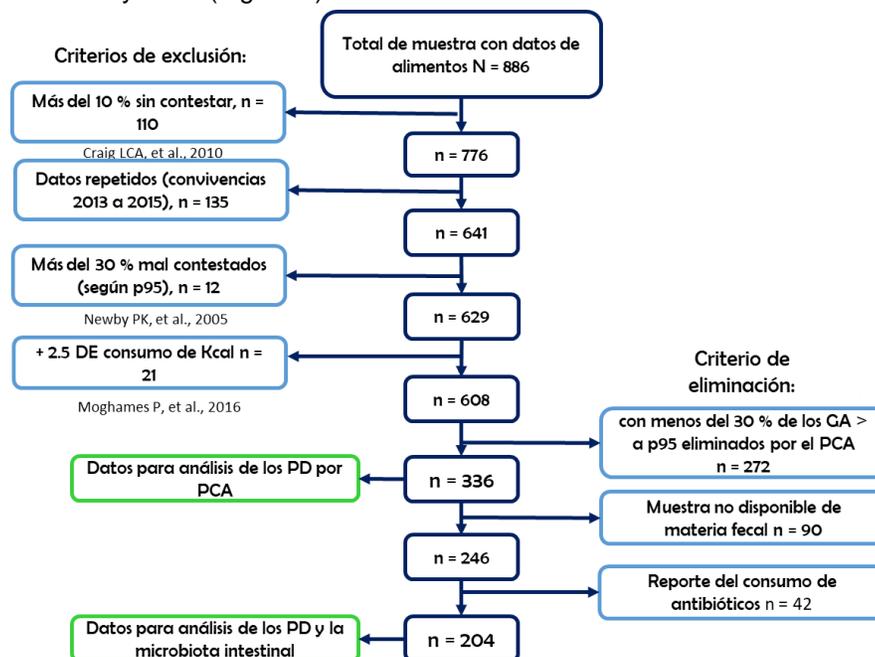


Figura 3: Diagrama de flujo de los criterios de selección de los datos de alimentación obtenidos mediante la Encuesta de Frecuencia de Consumo de Alimentos, para la evaluación de los patrones dietarios y, los patrones dietarios con la microbiota intestinal. Los cuadros centrales representan la n después de haber restado los datos de los niños según los criterios establecidos de exclusión (izquierda) o eliminación (derecha) en los cuadros azules laterales. Los cuadros verdes, indican la n con la que se analizaron los patrones dietarios y los patrones dietarios con la microbiota intestinal.

Posteriormente, se realizó un agrupamiento de los alimentos de acuerdo con las propiedades nutricionales de estos (122), dando un total de 27 GA (Apéndice: Anexo 1: Tabla 1). Luego, se estratificó la población en 2 grupos de edad: Menor o igual a 8 años y mayor a 8 años, debido a que el consumo de alimentos en estas edades suele ser diferente (123). Por tanto, se calcularon los percentiles 95 de cada GA dentro de cada grupo de edad (124). Aquellos niños con más del 30 % de los GA (mayor 9 GA) con valores por arriba del percentil 95 fueron excluidos del análisis (n = 12). Mientras que, en los niños cuyos valores mayores al percentil 95 era en menos del 30 % de los GA, solo se eliminó el valor del GA con el valor extremo.

Además, los datos se filtraron por el consumo energético (kilocalorías totales). 21 datos que tuvieron un consumo energético mayor de +2.5 DE de la media fueron excluidos (121,125). El tamaño de la muestra después de aplicar estos criterios de exclusión fue de 608 niños (Figura 3).

6.3.2.2. Análisis de los patrones dietarios. Los PD fueron obtenidos mediante un Análisis de Componentes Principales (PCA, por sus siglas en inglés) con datos

completos de los GA en el software SPSS v21. De los 608 niños con datos filtrados de alimentación, 336 contaron con los datos completos de los 27 GA (Figura 3), es decir, en estos 336 niños no se eliminaron valores mayores al percentil 95 en menos del 30 % de los GA. Por lo que, esta muestra fue utilizada para realizar el PCA y análisis posteriores.

El PCA se realizó con una rotación ortogonal Varimax para minimizar el número de variables en cada componente. Se utilizó un autovalor de 1.5 como punto de corte para determinar el número de componentes según lo reportado en otros estudios (5), en este caso fueron 4 componentes. Los puntajes conocidos como loading factor, que fueron tomados dentro de cada componente para la inclusión de los GA fueron aquellos mayores a 0.3 (5). Además, mediante el análisis de PCA se obtuvieron los puntajes de las regresiones, los cuales son asignados a cada muestra en cada uno de los componentes, pero no son mutuamente excluyentes. Estos puntajes fueron tomados como los factores de consumo por muestra de los 4 PD (o los 4 componentes) en los análisis con el fenotipo y la MI.

6.3.3. Datos antropométricos. Las medidas obtenidas de los niños fueron: Peso (kg), talla (cm), circunferencia de cintura (cm), cadera (cm) y muñeca (cm), según la metodología de Lohman et al.(126). A partir de estos datos, se obtuvo información del Índice de Masa Corporal (IMC) y de la complexión corporal. Esta última fue necesaria para determinar la composición corporal de manera indirecta (127).

El estado nutricional de los niños fue determinado según la clasificación de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés): Bajo peso corresponde a un percentil del IMC < 5, normopeso entre las percentilas ≥ 5 y < 85, sobrepeso entre las percentilas ≥ 85 y < 95, y obesidad a un percentil ≥ 95 (14).

6.3.4. Análisis de composición corporal. Esta fue estimada por bioimpedancia eléctrica con el equipo Quantum X Body Composition Analyzer, RJL Systems. Este método toma en consideración datos de: Edad, talla, peso, sexo y complexión corporal.

6.3.5. Datos clínicos y bioquímicos:

6.3.5.1 Datos clínicos. La presión arterial fue obtenida a través de un baumanómetro de mano digital y posteriormente se calcularon los percentiles por edad y sexo (128). Para la definición de presión arterial (PA) alterada, se usaron los cortes de la *American Academy of Pediatrics* (129) (Tabla 6).

Tabla 6: Cortes para la clasificación de la presión arterial en niños.

Clasificación	Niños 1 a 13 años
Normal	Percentil < 90
Presión Arterial elevada	Entre percentiles ≥ 90 y < 95 o 120 / 80 mmHg
Estadio 1 de HTA	Entre percentiles ≥ 95 y < 95 + 12 mmHg o de 130 / 80 mmHg a 139 / 89 mmHg
Estadio 2 de HTA	Percentil ≥ 95 + 12 mmHg o ≥ 140 / 90 mmHg

HTA: Hipertensión arterial

Referencia: Flynn J., y colaboradores, 2017 (129).

6.3.5.2. Análisis bioquímicos. El día de la convivencia se tomó una muestra de sangre periférica de 5 ml en tubos con EDTA como anticoagulante y con gel separador después de un ayuno de 8 a 12 horas.

En el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán se realizaron las determinaciones de los valores de: Glucosa, insulina, CT y TG mediante métodos enzimáticos colorimétricos; el c-HDL mediante ácido fosfotúngstico y Mg^{2+} ; la creatinina y ácido úrico; el aspartato transaminasa (AST), la alanina transaminasa (ALT) y la gamma glutamil transpeptidasa (GGT), mediante kits colorimétricos (Beckman Coulter, Fullerton, CA, EUA); el c-LDL se determinó mediante la diferencia del CT y el c-HDL, y la proteína C-reactiva. La medición de LPS se realizó mediante un método cromogénico con el kit QCL-1000 de (Lonza).

La clasificación de los lípidos en suero se realizó conforme a los criterios del *Expert Panel Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents* (NHLBI) (39) (Tabla 7).

Tabla 7: Cortes para la clasificación de dislipidemias en niños.

	Aceptable	Límite superior	Nivel alto
Colesterol total	< 170	170 - 199	> 200
c-LDL	< 110	110 - 129	> 130
Triglicéridos:			
0 - 9 años	< 75	75 - 99	> 100
10 - 19 años	< 90	90 - 129	> 130
	Aceptable	Límite superior	Bajo
c-HDL	> 45	40 - 45	< 40

c-LDL: Colesterol asociado a lipoproteína de baja densidad, c-HDL: colesterol asociado a lipoproteína de alta densidad. Los valores están representados en mg / dl. Referencia: *Expert Panel Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents* (NHLBI) (39).

La clasificación de la inferencia sobre la RI se evaluó por el corte ≥ 3.4 en los valores de HOMA-IR, previamente utilizado en otra cohorte de estos niños (26).

6.3.6. Clasificación del Síndrome Metabólico. Los valores de referencia que fueron utilizados para la clasificación del Síndrome Metabólico en niños, se basaron en los criterios establecidos por De Ferranti, y colaboradores (Tabla 8) (43).

Tabla 8: Criterios para la determinación de Síndrome Metabólico en niños.

Variables	Valores
Hipertrigliceridemia	≥ 100 mg / dl
c-HDL	< 50 mg / dl
Glucosa en ayuno	≥ 110 mg / dl
Obesidad central (Circunferencia de Cintura)	> percentil 75 (por edad y sexo)
Hipertensión	> percentil 90 (por edad, sexo y altura)

c-HDL: Colesterol asociado a lipoproteína de alta densidad, CC: Circunferencia de cintura.

Referencia: De Ferranti, y colaboradores (43).

6.4. Análisis de microbiota intestinal

La metodología para la evaluación de la MI consistió en los siguientes pasos (Figura 4).

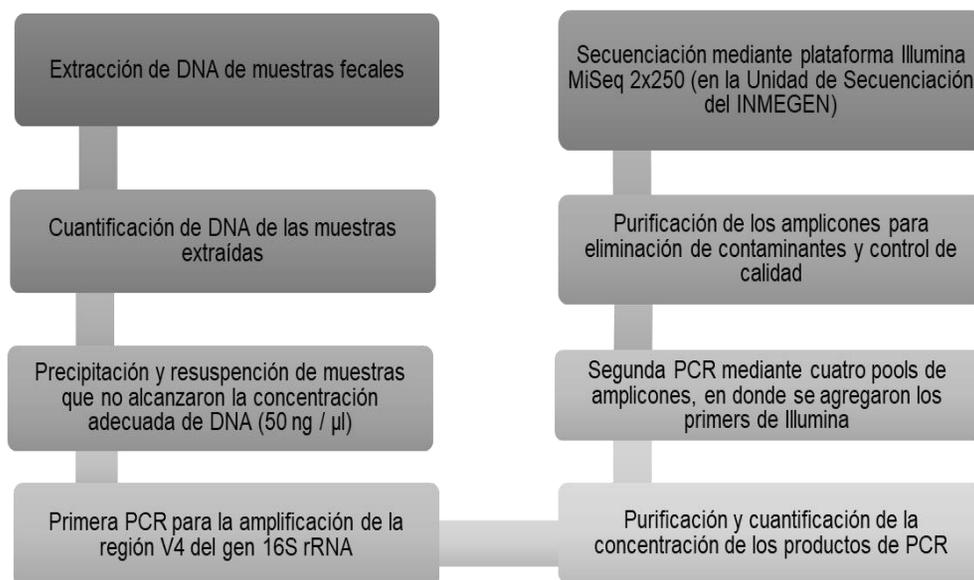


Figura 4: Proceso general para la evaluación de la microbiota intestinal.

6.4.1. Extracción de DNA de muestras fecales. Se pesaron entre 180 - 220 mg de muestra fecal y se colocaron en un tubo de 2 ml de microcentrifuga. La extracción de DNA de las muestras fecales se realizó mediante el estuche DNA Stool Mini Kit Qiagen conforme a las instrucciones del fabricante (Ref. 51504) (Apéndice: Anexo 2).

6.4.2. Preparación de bibliotecas. Después de la extracción de DNA, se realizó la amplificación de la región hipervariable V4 (254 pb) del gen 16S ribosomal RNA

(rRNA). Se usaron los oligos: 515F (5' G TGC CAG CMG CCG CGG TAA 3'; 19 pb) y 806R (5'GG ACT ACH VGG GTW TCT AAT 3'; 20 pb) (130), donde el oligo reverse incluyó las secuencias de código de barras para la identificación de la muestra (Figura 5; Apéndice: Anexo 3: Tabla 2).

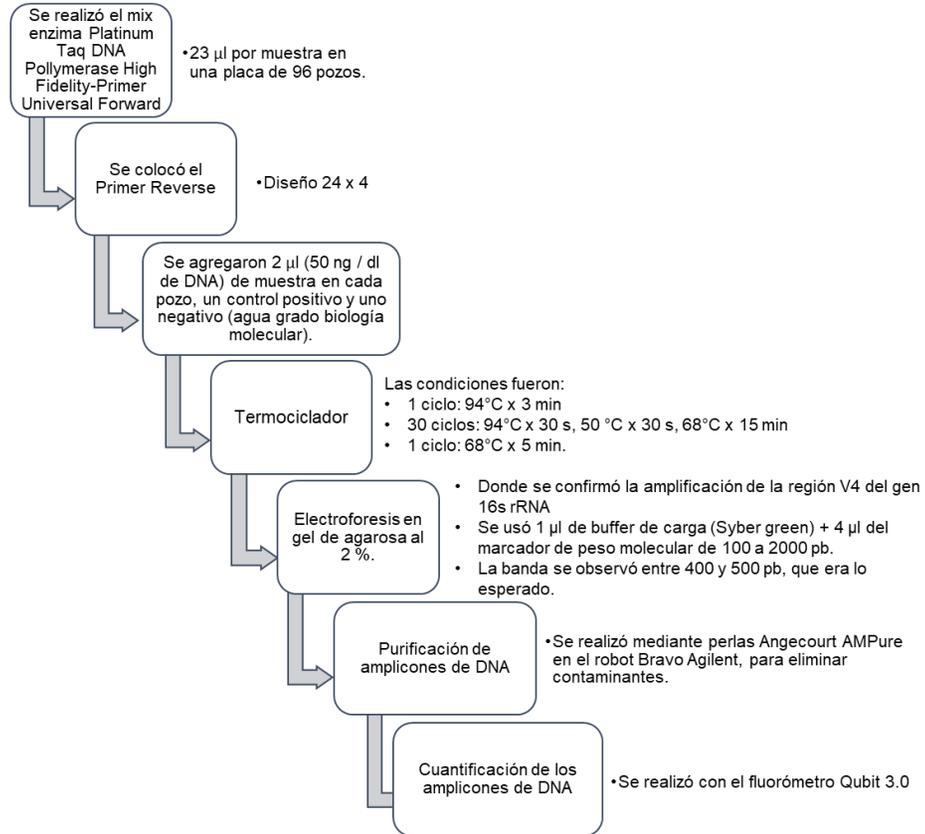


Figura 5: Metodología para la amplificación, purificación y cuantificación de amplicones de DNA de la región hipervariable V4 del gen 16S rRNA.

Después se realizaron cuatro conjuntos de 24 muestras individuales, con 25 ng por muestra de los amplicones obtenidos de la primera PCR. El pool de amplicones se concentró con vacío a un volumen de 15 µl. Se cuantificaron las muestras en el nanofotómetro y se realizaron las diluciones correspondientes para obtener una concentración final de 25 ng / µl. Para la segunda PCR, se preparó la mezcla de reacción (polimerasa y oligo universal forward) y se colocaron 46 µl en 4 tubos para PCR, en cada uno se añadió un oligo reverse (Apéndice: Anexo 4: Tabla 3). Estos oligos son necesarios para el proceso de secuenciación en la plataforma Illumina debido a que se unen a la secuencia correspondiente de nucleótidos contenida en la placa o flow cell.

Posteriormente se realizó la PCR con las siguientes condiciones en el termociclador: 94 °C por 2 min, luego de 5 ciclos de 94 °C por 30 s, 60 °C por 30 s, 68 °C por 1.5 min, y un ciclo a 68 °C por 5 min. Por último, los amplicones del gen 16S rRNA fueron purificados con las perlas Angecourt AMPure (Ref A63881; LOT

16585900) (131–133), los cuales fueron nuevamente cuantificados mediante el kit Qubit dsDNA High Sensitivity Assay Kits y el fluorómetro Qubit 3.0 (133). El proceso de secuenciación fue realizado en la plataforma Illumina MiSeq 2x250 en la Unidad de Secuenciación del Instituto Nacional de Medicina Genómica.

6.5. Procesamiento de las secuencias de amplicones del gen

16S rRNA

El análisis de las secuencias se realizó mediante el pipeline *Quantitative Insights Into Microbial Ecology* (QIIME v 1.9) (134). Primero, los datos fueron demultiplexeados y filtrados para eliminar las secuencias de baja calidad mediante un valor de Phred < 30. Luego, se realizó la asignación taxonómica mediante el algoritmo de UCLUST (135) con un método de referencia cerrada, donde se utilizó la base de datos de GreenGenes v13_08. La asignación fue realizada con un 97 % de identidad con lo que se determinaron las Unidades Taxonómicas Operacionales (OTU).

De la tabla de OTUs se filtró el 0.005 % del total de las secuencias observadas en el total de la muestra, siendo este porcentaje el total mínimo de las secuencias de una OTU para que ésta fuera incluida. La diversidad alfa se analizó mediante Chao1, que es un estimador no-paramétrico de la riqueza que usa las frecuencias de las especies raras detectadas para inferir el total de la riqueza de especies (136,137), así como con los índices de Shannon y Simpson. El índice de Shannon es un estimador de la riqueza y la equidad de las especies que tiene mayor peso en la riqueza de las especies. El índice de Simpson, al igual que Shannon, es un estimador de la riqueza y la equidad de las especies pero que tiene mayor peso en la equidad de las especies e indica la dominancia de estas (138). Se calculó la diversidad beta con UniFrac ponderada y no ponderada, para la comparación de las comunidades microbianas basadas en la filogenia (139).

La identificación de los enterotipos se realizó con la metodología utilizada por Amurugam M., y colaboradores (71). Brevemente, las abundancias relativas a nivel de género se agruparon usando la distancia Jensen-Shannon y el algoritmo de PAM, el cual permite realizar la asignación de los objetos o medoides (en este caso las abundancias) que están centralizados en conglomerados. La finalidad de PAM es disminuir el promedio de la disimilitud de los objetos hacia su objeto más cercano y una de sus ventajas es que admite cualquier medida de distancia en la matriz (140). Para elegir el número correcto de conglomerados se utilizó el Índice Calinski-Harabasz (CH) y, para su validación se utilizó el índice de Silhouette (71,141).

6.6. Inferencia de la funcionalidad de la MI

La predicción de las vías funcionales se realizó mediante el programa *Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States* (PICRUSt) (142). Este programa contiene información previamente computarizada sobre el contenido de genes bacterianos que son filogenéticamente cercanos, necesaria para la predicción del contenido de genes de la muestra de estudio mediante 16S rRNA. Con esto realiza una posterior predicción del número de copias de genes marcadores. Para cuantificar la disponibilidad del genoma representativo más cercano al microbioma de la muestra, se calculó el Índice de taxón secuenciado más cercano (nearest sequenced taxon index o NSTI, por sus siglas en inglés). Cuanto mayor sea este valor, menor es la exactitud de PICRUSt en la predicción.

Por último, se utilizó la base de datos del *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG), para inferir las funciones metabólicas de la muestra. En total se obtuvieron datos de 6900 KOs (KEGG orthologs) referentes a las vías funcionales encontradas, las cuales se dividieron en tres niveles.

6.7. Estadística

Para el análisis de los datos se utilizaron los paquetes SPSS v21 y R Studio v.3.4.0. Se verificó la normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Debido a que los datos no cumplieron con una distribución normal, los análisis fueron realizados mediante pruebas no-paramétricas. Para la descripción de los datos antropométricos, bioquímicos, clínicos y de composición corporal se utilizó la muestra total ($n = 336$) y se realizó la estratificación por sexo y tomando un corte de adolescencia (> 8 años) conforme a referencias previas (143). Se obtuvieron las medianas y los rangos intercuartílicos (RI) de las variables cuantitativas, y la proporción de las variables cualitativas.

Para evitar que el contenido energético tuviera un efecto sobre la frecuencia de consumo de los GA, los valores de éstos fueron estandarizados por el consumo de kilocalorías (consumo del GA por día / kilocalorías consumidas por día por niño) (5).

Los análisis exploratorios para las variables cuantitativas se realizaron mediante correlaciones parciales de Spearman. Los valores de p de las correlaciones Spearman entre los factores de consumo de los PD y los nutrientes o con la taxonomía fueron corregidos por comparaciones múltiples mediante la prueba de False discovery rate (FDR), por lo que los valores corregidos por esta comparación serán representados como p FDR. Además, las correlaciones entre los factores de consumo de los PD y la taxonomía o los parámetros metabólicos fueron ajustadas por sexo, edad y el pIMC. Por último, las correlaciones entre los factores

de consumo de los PD o nutrientes y la diversidad alfa también fueron ajustadas por sexo, edad, el pIMC y el número de secuencias por muestra.

La varianza explicada por los factores de consumo de los PD sobre el fenotipo se obtuvo a través de un análisis de PCA. Para determinar la varianza explicada por los factores de los PD sobre la estructura de la MI se realizó un análisis ADONIS con la diversidad beta, evaluada mediante las distancias de UniFrac ponderada (Weighted) y no ponderada (Unweighted), mediante el pipeline de QIIME.

Las comparaciones de los factores de consumo de los PD entre los fenotipos (niños con dislipidemia, estado nutricional, síndrome metabólico o resistencia a la insulina) se realizaron mediante las pruebas U de Mann-Whitney o Kruskal Wallis. Además, para determinar el riesgo del consumo de los PD sobre el estado nutricional y el síndrome metabólico se calculó la razón de momios. La significancia estadística se estableció, en cada uno de los análisis, con un valor de $p < 0.05$.

7. Resultados

7.1. Descripción de la muestra

Los análisis descriptivos se realizaron en una muestra de 336 niños, que tuvieron datos completos en los GA, y que fueron usados para el análisis de los PD. El 50.30 % fueron niñas y la edad media fue de 9.40 (RI: 8.30 – 10.90) (Tabla 9). Al estratificar la muestra por sexo, se observó que las niñas (n = 167) presentaron mayores niveles de TG, insulina y HOMA-IR a diferencia de los niños (n = 169; Anexo 5: Tabla 4). Mientras que, al estratificar la muestra por grupos de edad (≤ 8 y > 8 años), en aquellos > 8 años se observaron mayores valores de cintura, cadera, creatinina, ácido úrico, porcentaje de grasa, insulina y HOMA-IR ($p < 0.05$), en comparación con los ≤ 8 años (Anexo 6: Tabla 5).

Por otro lado, al realizar las comparaciones según el sexo y por grupo de edad, se observaron mayores niveles de insulina ($p = 3.72 \times 10^{-4}$) y HOMA-IR ($p = 3.04 \times 10^{-4}$) en niñas > 8 años vs niñas ≤ 8 . Mientras que, en niños > 8 años se observaron menores niveles de c-HDL vs niños ≤ 8 ($p = 0.039$). Además, tanto niñas y niños > 8 años presentaron mayores valores en el peso, talla, cintura, cadera y creatinina, en comparación con niños y niñas ≤ 8 años (Anexo 7: Tabla 6-7).

Tabla 9: Resultados descriptivos de la muestra.

	Mediana (RI)
Edad (años)	9.40 (8.30 - 10.90)
Datos antropométricos	
Peso (kg)	34.00 (26.00 - 42.00)
Talla (percentil)	50.10 (25.45 - 73.70)
Cintura (cm)	66.00 (58.50 - 74.50)
Cadera (cm)	76.00 (69.00 - 83.43)
IMC (percentil)	74.25 (36.63 - 91.78)
Datos de Composición Corporal	
Grasa corporal (%)	29.90 (21.78 - 37.71)
Masa Libre de Grasa (%)	68.60 (60.63 - 75.90)
Datos Clínicos	
PAS (percentil)	48.75 (27.03 - 68.30)
PAD (percentil)	79.95 (64.78 - 89.90)
Datos bioquímicos	
Creatinina (mg / dl)	0.46 (0.40 - 0.52)
Ácido Úrico (mg / dl)	4.50 (3.90 - 5.20)
Colesterol total (mg / dl)	162.00 (146.00 - 182.00)
Triglicéridos (mg / dl)	81.00 (56.00 - 107.75)
c-HDL (mg / dl)	48.00 (41.00 - 56.00)
c-LDL (mg / dl)	96.00 (82.00 - 113.00)
AST (IU / l)	29.00 (26.00 - 34.00)
ALT (IU / l)	19.00 (16.00 - 25.00)
GGT (IU / l)	13.00 (12.00 - 16.00)
Glucosa (mg / dl)	88.00 (84.00 - 92.00)
Insulina (UI / ml)	5.45 (3.60 - 8.35)
HOMA-IR	1.17 (0.76 - 1.86)
Proteína C-reactiva (mg / dl)*	0.06 (0.02 - 0.17)
LPS**	0.72 (0.48 - 1.37)

IMC: Índice de Masa Corporal; PAS: Presión Arterial Sistólica; PAD: Presión Arterial Diastólica; c-HDL: Colesterol asociado a Lipoproteína de Alta Densidad; c-LDL: Colesterol asociado a Lipoproteína de Baja Densidad; AST: Aspartato Aminotransferasa; ALT: Alanina Aminotransferasa; GGT: Gamma Glutamil Transferasa; HOMA-IR: Evaluación del Modelo Homeostático en Resistencia a la Insulina; LPS: Lipopolisacárido.

*n = 273; **n = 160

7.2. Determinación de las complicaciones metabólicas

Dentro del total de la muestra de estudio ($n = 336$) el 36.9 % de los niños presentó sobrepeso u obesidad (Figura 6). Según la clasificación de la NHLBI el 13.39 % de los niños presentó hipercolesterolemia, 10.57 % niveles altos de c-LDL, 25.07 % hipertrigliceridemia y 20.24 % hipoalfalipoproteinemia. Además, el 5.7 % de los niños presentaron resistencia a la insulina. Por último, el Síndrome Metabólico se presentó en el 24.7 % de los niños.

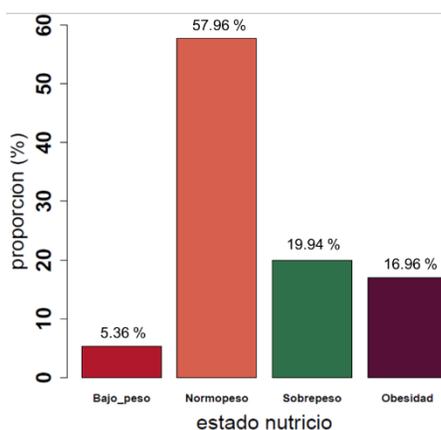


Figura 6: Proporciones de niños conforme a la clasificación del estado nutricional por los percentiles del IMC, según los CDC.

7.3. Identificación de los patrones dietarios

De acuerdo con el primer objetivo, a través del PCA y con un autovalor > 1.5 (gráfica de sedimentación, Figura 7) se identificaron cuatro PD que en conjunto explicaron el 28.43 % de la varianza del consumo de los GA. Como se muestra en la Figura 8a-d, los PD se nombraron tomando en cuenta el mayor y menor consumo de los GA de los PD.

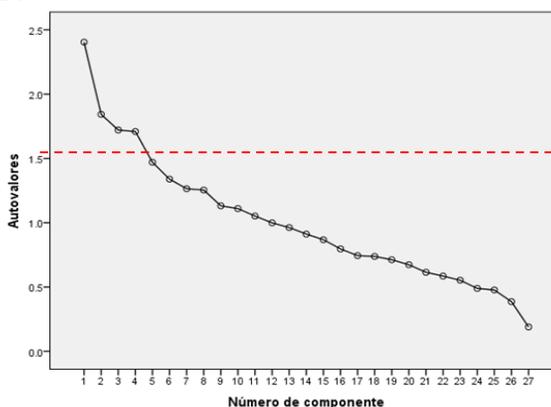


Figura 7: Gráfico de sedimentación del análisis de componentes principales representando el número de componentes. Este gráfico se basa en los autovalores (eje de las ordenadas) y el número de componentes (eje de las abscisas) calculados en relación con los valores de los 27 grupos de alimentos. La línea punteada roja representa el límite del autovalor de 1.5 para la elección de los componentes que explicaron mejor la varianza del análisis.

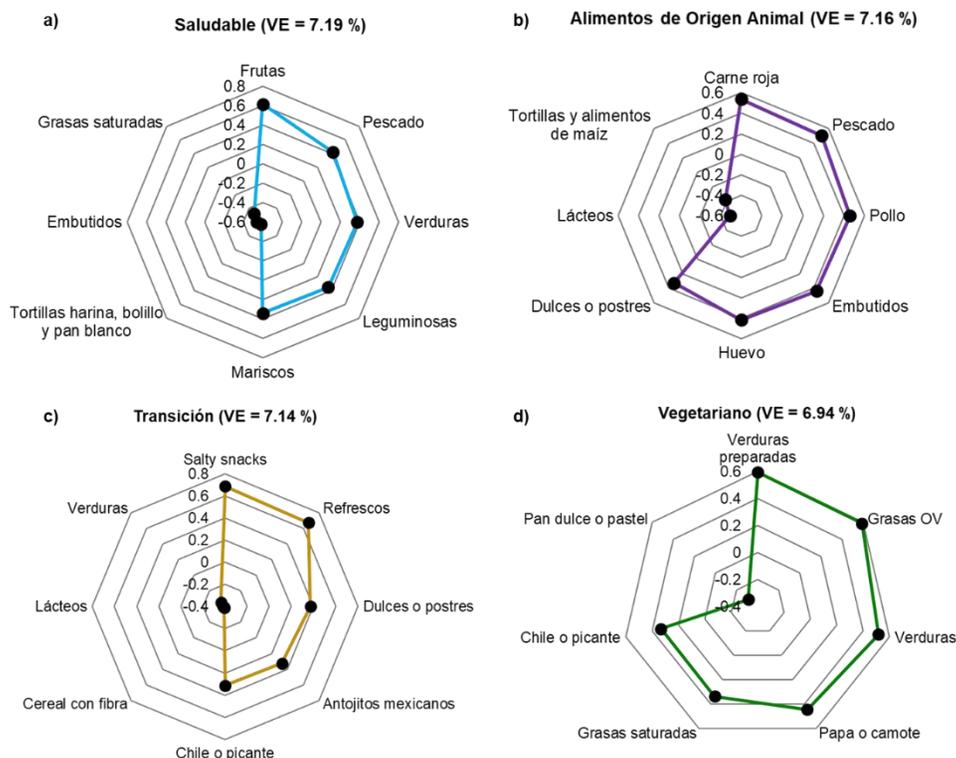


Figura 8: Gráficos de araña representados por el factor de consumo de los grupos de alimentos en cada patrón dietario. a) PD Saludable, b) PD Alimentos de origen animal, c) PD de Transición y d) PD Vegetariano. Los puntos representan el puntaje de consumo de los grupos de alimentos, siendo mayor cuanto más cerca estén de los extremos del gráfico, y menor cuanto más cerca estén del centro del gráfico. VE: Varianza explicada; PD: Patrón de alimentos.

Con la finalidad de conocer más sobre la composición nutrimental de cada uno de los PD, se correlacionaron los factores de consumo de cada PD con los nutrientes. El PD Saludable correlacionó positivamente con el porcentaje de proteínas y carbohidratos, con los diferentes tipos de fibra, así como con el consumo de glucosa, fructosa y maltosa. El PD rico en AOA correlacionó con mayor porcentaje de proteína y lípidos en la dieta, al igual que con mayor consumo de colesterol, grasas de origen animal y algunas vitaminas liposolubles. El PD de Transición correlacionó positivamente con los gramos de glucosa y sacarosa, y negativamente con el porcentaje de proteínas, así como con la ingesta de vitaminas, minerales y fibra. El PD Vegetariano correlacionó positivamente con diferentes minerales, vitaminas, grasa de origen vegetal y poliinsaturada, y negativamente con grasas de origen animal y grasas saturadas (Figura 9).

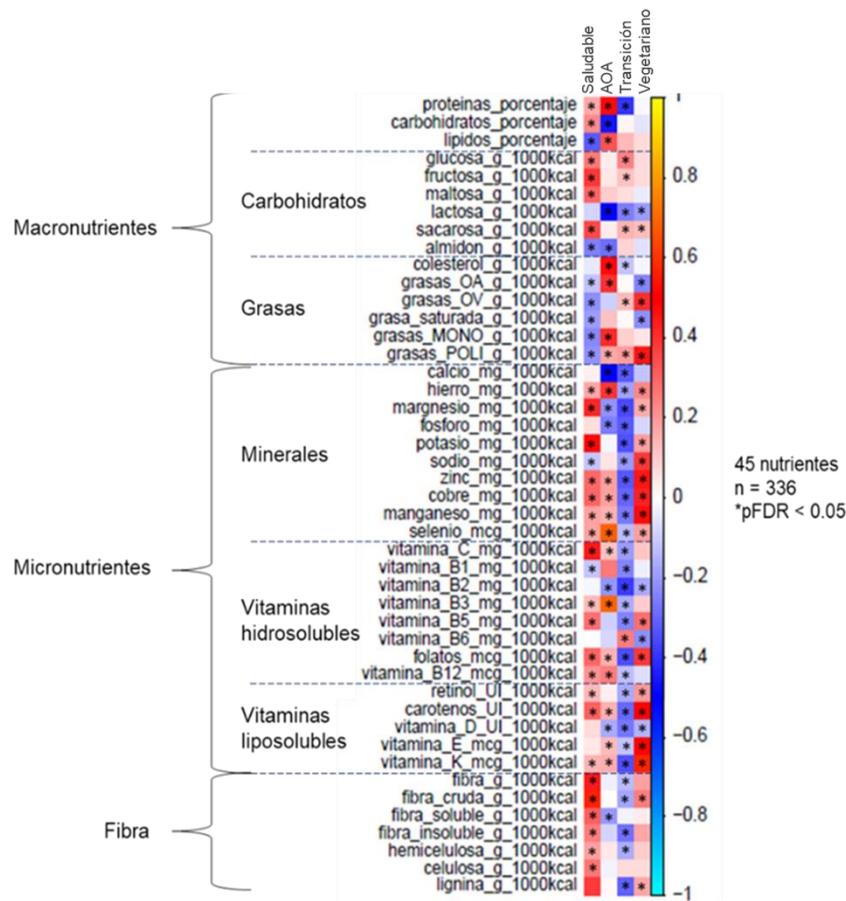


Figura 9: Mapa de calor de las correlaciones Spearman entre los factores de consumo de los patrones dietarios y los nutrientes (g, mg, mcg o UI / 1000 kcal / día). El color rojo-naranja representa una correlación positiva y el color azul representa una correlación negativa. * pFDR < 0.05 corregido por comparaciones múltiples mediante FDR. PD: Patrones dietarios; AOA: Alimentos de Origen Animal.

7.4. Asociación de los patrones dietarios con los parámetros metabólicos

El segundo objetivo del trabajo radica en identificar la influencia de los PD sobre los parámetros y complicaciones metabólicas, como el sobrepeso-obesidad y el Síndrome Metabólico. Como un primer paso, se exploró si alguno de los PD podría explicar mayormente el fenotipo metabólico. Para ello se evaluó en conjunto a los parámetros bioquímicos, antropométricos, clínicos y de composición corporal mediante un PCA y su relación con los PD. A través de este análisis, se identificó al PD AOA como aquel con mayor contribución sobre la varianza de los parámetros introducidos, explicando un 4.7 % ($p = 0.003$). Mientras que el PD Vegetariano contribuyó en un 1.3 % de la varianza, aunque no alcanzó significancia estadística ($p = 0.126$).

En la correlación de los factores de consumo de los PD con los datos antropométricos y de composición corporal, el consumo del PD Vegetariano

correlacionó de manera negativa con el pIMC ($\rho = -0.122$, $p = 0.025$) (Figura 10) y positiva con los kilogramos de masa libre de grasa ($\rho = 0.108$, $p_{\text{Ajustada}} = 0.048$). Además, en un modelo de riesgo realizado entre los grupos de bajo peso-normopeso y sobrepeso-obesidad según el cuartil de consumo (cuartil uno se utilizó como referencia) y ajustado por sexo y edad, se observó que el mayor consumo del PD Vegetariano fue de protección contra la presencia de sobrepeso-obesidad (OR = 0.309, CI 95 %: 0.155 – 0.619, $p_{\text{Ajustada}} = 0.001$). Para el resto de los PD no se observaron correlaciones significativas con la composición corporal o el estado nutricional.

En cuanto a los valores bioquímicos, el consumo del PD Saludable que incluye entre otros grupos a los mariscos correlacionó positivamente con los niveles de CT y AST ($p_{\text{Ajustada}} < 0.05$). Debido a esta asociación, y a la relación previamente reportada entre el consumo de mariscos y los niveles séricos de colesterol (144), se correlacionaron estas dos variables, en nuestra muestra de estudio, observando una correlación positiva ($\rho = 0.181$, $p_{\text{Ajustada}} = 0.001$). El PD de Transición mostró una tendencia a correlacionarse positivamente con los niveles de proteína C-reactiva. El PD Vegetariano correlacionó de manera positiva con los niveles de ALT ($p_{\text{Ajustada}} < 0.05$), y como tendencia con los niveles de AST (Figura 10). A pesar de las observaciones anteriores, en las comparaciones con la presencia de complicaciones metabólicas, como dislipidemias, el consumo de estos tres PD no fue significativamente diferente (comparaciones entre valores aceptables vs altos; datos no mostrados).

De manera interesante, el factor de consumo del PD AOA correlacionó positivamente con los valores de CT, c-LDL, AST y GGT ($p_{\text{Ajustada}} < 0.05$; Figura 10). Además, en la comparación entre individuos con hipercolesterolemia vs sujetos con niveles aceptables de CT (Aceptable: Mediana = -0.162 (RI: -0.766 - 0.472); alto: Mediana = 0.400 (RI: -0.694 - 0.991); $p = 0.036$) y, niveles altos vs aceptables de c-LDL (Aceptable: Mediana = -0.152 (RI: -0.742 – 0.491); alto: Mediana = 0.479 (RI: -0.100 - 1.033); $p = 0.002$), se observó un mayor consumo del PD AOA en los individuos con hipercolesterolemia y con niveles altos de c-LDL.

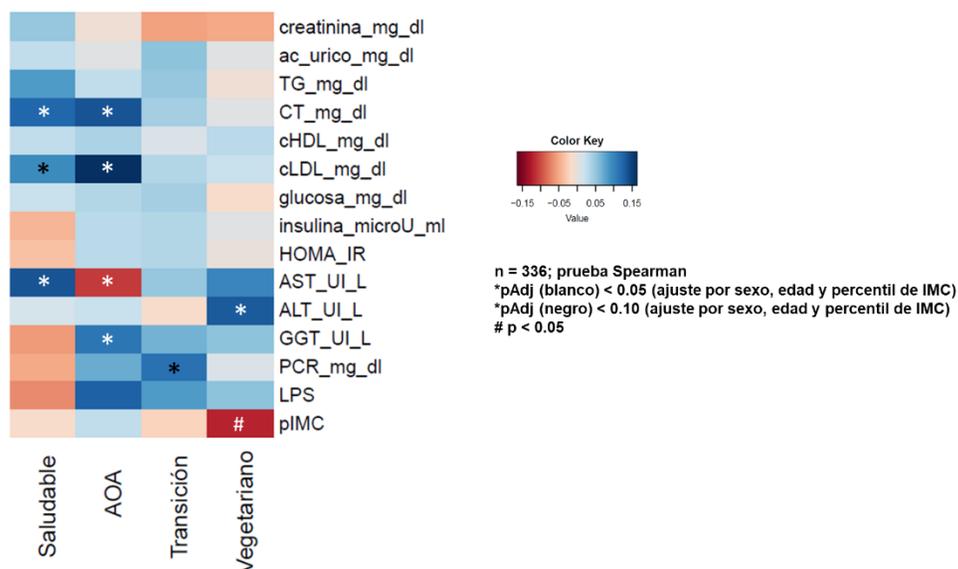


Figura 10: Mapa de calor de las correlaciones parciales Spearman entre los factores de consumo de los patrones dietarios y los parámetros bioquímicos y el percentil de IMC.

El color azul representa una correlación positiva y el color rojo representa una correlación negativa. * p (blanco) < 0.05; * p (negro) < 0.1; # p < 0.05. Las correlaciones se ajustaron por sexo, edad y pIMC. AOA: Alimentos de origen animal, TG: Triglicéridos, CT: Colesterol total, c-HDL: Lipoproteína de alta densidad, c-LDL: Lipoproteína de baja densidad (n = 331), AST: Aspartato aminotransferasa, ALT: Alanina aminotrasferasa, GGT: Gamma glutamil transferasa, HOMA-IR: Evaluación del modelo homeostático de resistencia a la insulina, PCR: Proteína C-reactiva (n = 273), LPS: Lipopolisacárido en suero (n = 160), pIMC: Percentil de Índice de Masa Corporal.

Con base en los resultados anteriores, se realizó un análisis para evaluar si el consumo del PD AOA se asociaba con mayor riesgo de presentar las complicaciones metabólicas antes mencionadas. El mayor consumo del PD AOA se asoció con 68.9 % mayor riesgo de tener niveles altos de c-LDL (CI 95 %: 1.148 – 2.486, pAjustada = 0.008) y de manera limítrofe con un 37.3 % (CI 95 %: 0.977 – 1.929, pAjustada = 0.073) de presentar hipercolesterolemia.

En contraste, el mayor consumo (cuartil cuatro) del PD Vegetariano se asoció como tendencia, con menor riesgo de presentar Síndrome Metabólico (OR: 0.520; CI 95 %: 0.240 – 1.128, pAjustada = 0.098) comparado con los niños con un menor consumo (primer cuartil).

7.5. Asociación de los patrones dietarios con el estilo de vida

Con la finalidad de evaluar si el consumo de los PD se relacionaba con factores del estilo de vida (sedentarismo y tiempo de pantalla, entre otros), se realizaron correlaciones entre estas variables y los factores de consumo de los PD. El PD de Transición correlacionó de manera positiva con las horas de pantalla y las horas de sedentarismo por semana (donde se tomó en cuenta las horas de televisión, lectura, videojuegos y transporte) (rho = 0.298, pFDR = 4.4x10⁻⁸; rho =

0.266, pFDR = 1.3×10^{-6} , respectivamente). En contraste, el PD Saludable mostró una tendencia negativa con estas mismas variables ($\rho = -0.154$, pFDR = 0.064; $\rho = -0.138$, pFDR = 0.069, respectivamente).

Además, los niños con madres y padres con un mayor nivel educativo (escolaridad superior o de posgrado) en comparación con los niños con madres y padres de menor nivel educativo (escolaridad básica y media superior), mostraron un mayor consumo del PD Saludable (Básica: Mediana = -0.276, RI: -0.659 – 0.254 vs Superior: Mediana = 0.172, RI: -0.534 – 0.876, $p = 0.003$) y del PD AOA (Básica: Mediana = -0.536, RI: -0.933 – 0.016 vs Superior: Mediana = 0.172, RI: -0.442 – 0.942, $p = 3.9 \times 10^{-5}$).

7.6. Microbiota Intestinal

7.6.1. Caracterización de la microbiota intestinal

El análisis de la MI se realizó en 204 niños con muestras fecales disponibles, y que reportaron no haber consumido antibiótico 3 meses previos a la encuesta o en el día de la toma de muestra. A través del análisis taxonómico, se obtuvieron 10 *phyla*, 18 clases, 23 órdenes, 42 familias, 76 géneros y 96 especies. De manera general, las medianas de abundancia relativa (AR) en la muestra total a nivel de *phyla* fueron las siguientes: *Bacteroidetes* (61.32 %), *Firmicutes* (35.59 %), *Proteobacteria* (2.65 %), *Actinobacteria* (0.32 %), *Tenericutes* (0.09 %) y *Verrucomicrobia* (0.02 %) (Anexo 9: Figura 1). Las abundancias relativas por nivel taxonómico se pueden observar en el Anexo 9: Figuras 2-6. Además, las medianas de los valores normalizados de los índices o estimados de la diversidad alfa y el número de OTUs se observan en la Tabla 10.

Tabla 10: Valores descriptivos de la diversidad alfa y número de OTUs.

Índices de diversidad alfa	Mediana (RI)
Chao1	0.5302 (0.4143 - 0.6533)
Shannon	0.6678 (0.5317 - 0.7916)
Simpson	0.8761 (0.7566 - 0.9357)
OTUs	1064.00 (910.50 – 1212.75)

n = 204

7.6.2. Interacción entre la dieta, la estructura de la microbiota intestinal y el fenotipo metabólico.

Como se mencionó anteriormente, la interacción entre la dieta, la MI y el fenotipo metabólico, puede ser evaluada de dos maneras: La primera como mediador del efecto, donde la dieta modifica directamente la estructura de la MI y, posteriormente esta modificación en la MI puede influir sobre el fenotipo metabólico, y la segunda como modificador del efecto, donde el perfil de MI pueden influenciar la interacción entre la dieta y el fenotipo metabólico.

7.6.2.1. Evaluación de la microbiota intestinal como mediador del efecto dieta-fenotipo metabólico.

Por tanto, para evaluar a la MI como un mediador y con base en el tercer objetivo de este trabajo, primero se evaluó la interacción de los PD con la estructura de la MI, la taxonomía y la diversidad alfa. Inicialmente se evaluó la diversidad beta, que nos habla de la estructura de la MI. El consumo del PD Saludable explicó un 0.78 % de la varianza de la estructura de la MI ($p = 0.02$, $pFDR = 0.088$) evaluada mediante la distancia Unweighted UniFrac. Como se observa en la Tabla 11, el resto de los PD no mostraron asociaciones significativas con la diversidad beta.

Tabla 11: Asociaciones entre los factores de consumo de los patrones dietarios y la variación de la estructura de la microbiota intestinal evaluada por la diversidad beta.

	Weighted			Unweighted		
	R2	p	pFDR	R2	p	pFDR
Saludable	0.00662	0.233	0.505	0.00781	0.022	0.088
Alimentos Origen Animal	0.00529	0.339	0.505	0.00664	0.081	0.162
Transición	0.00223	0.818	0.818	0.00489	0.476	0.476
Vegetariano	0.00469	0.379	0.505	0.00565	0.241	0.321

n = 204

Prueba ADONIS

Posteriormente, se asoció el factor de consumo de los PD con los diferentes niveles taxonómicos de la MI. A nivel de *phyla*, el PD de Transición correlacionó positivamente con la AR de *Verrucomicrobia* ($pFDR < 0.05$). La corrección permaneció significativa hasta el nivel de especie *Akkermansia muciniphila* (*A. muciniphila*) pero solo a nivel nominal ($\rho = 0.199$, $p = 0.005$, $pFDR = 0.133$). Además, el consumo de este PD también correlacionó de manera positiva con la AR de *Coriobacteriaceae* ($pFDR < 0.05$; Figura 11).

El consumo del PD AOA correlacionó positivamente con la AR de *Lachnospira* a nivel de género ($pFDR < 0.05$; Figura 11). El resto de los PD (Saludable y Vegetariano) mostraron solo correlaciones a nivel nominal con la taxonomía (Figura 11, datos a nivel de especie no mostrados).

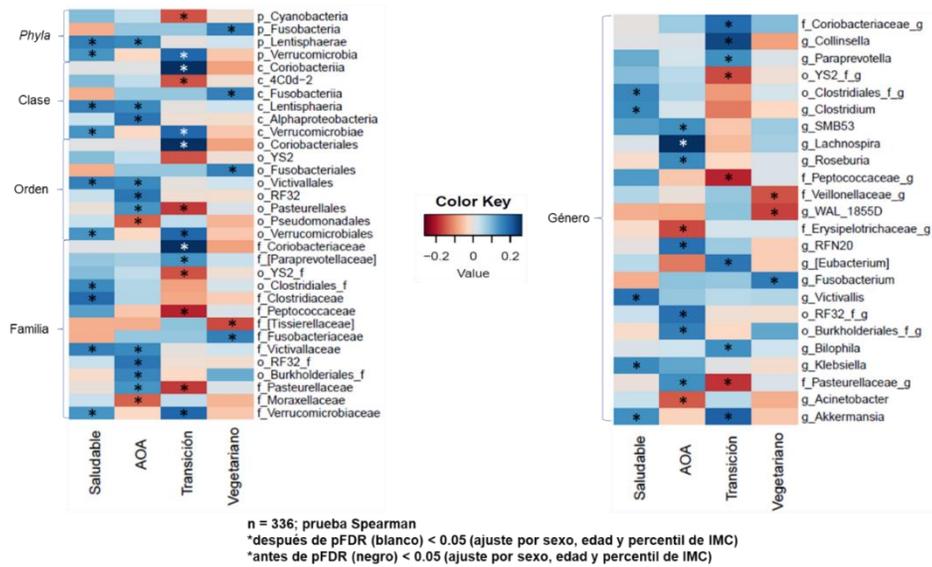


Figura 11: Mapa de calor de las correlaciones parciales Spearman entre la taxonomía a nivel de *phyla*, clase, orden, familia y género con el factor de consumo de los patrones dietarios. El color azul representa una correlación positiva y el color rojo representa una correlación negativa. * después de pFDR (blanco) < 0.05; * antes de pFDR (negro) < 0.05 ajustes por sexo, edad, percentil de IMC. AOA: Alimentos de origen animal.

Por último y considerando que estudios previos han observado que el consumo de dietas habituales se asocia con la diversidad de la MI, se asociaron los factores de consumo de los PD con los índices de diversidad alfa. Como se puede observar en la Figura 12, y consistente con las asociaciones observadas en la diversidad beta, solo el mayor consumo del PD Saludable correlacionó de manera positiva con el índice de Chao1 ($\rho = 0.154$, $p_{\text{ajustada}} = 0.023$) y como tendencia con el índice de Shannon ($\rho = 0.133$, $p_{\text{ajustada}} = 0.06$; Figura 12).

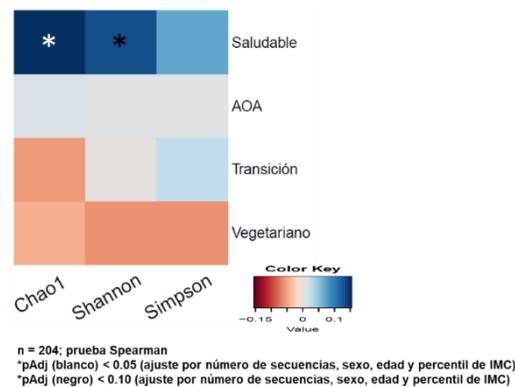


Figura 12: Mapa de calor de las correlaciones parciales Spearman entre los puntajes de consumo de los patrones dietarios y los índices de diversidad alfa. El color azul representa una correlación positiva y el color rojo representa una correlación negativa. * p (blanco) < 0.05; * p (negro) < 0.1, ajustes por el número de secuencias, sexo, edad y el percentil de IMC.

El PD Saludable se caracteriza por el consumo de alimentos con alto contenido de FD como leguminosas, frutas y verduras. Por ello y dado que el consumo de FD *per se* ha sido asociado con mayor diversidad de la MI (10), se decidió correlacionar directamente los diferentes tipos de FD, con los índices de diversidad alfa. Como se muestra en la Tabla 12, el consumo de fibra total correlacionó positivamente con la riqueza evaluada mediante Chao1 y la diversidad (Shannon). Mientras que, el consumo de fibra insoluble y particularmente la hemicelulosa, correlacionaron positivamente con los tres índices de diversidad alfa de la MI (Tabla 12).

Tabla 12: Correlaciones parciales entre el consumo de fibra dietaria y la diversidad alfa.

Fibra**	Chao1		Shannon		Simpson	
	rho	p*	rho	p*	rho	p*
Fibra total	0.167	0.018	0.162	0.022	0.139	0.050
Fibra soluble	0.102	0.153	0.093	0.192	0.077	0.279
Fibra insoluble	0.181	0.010	0.174	0.014	0.165	0.020
Hemicelulosa	0.156	0.027	0.146	0.039	0.143	0.043
Celulosa	-0.099	0.161	-0.073	0.304	-0.042	0.557
Lignina	0.089	0.211	0.110	0.123	0.077	0.281

n = 204

Prueba Spearman; significancia $p < 0.05$.

*p ajustada por número de secuencias, sexo, edad y pIMC.

**Los diferentes tipos de fibra fueron ajustados por el consumo de 1000 Kcal al día.

Con base en los resultados anteriores, y para determinar si la correlación del PD Saludable con la riqueza y el índice de Shannon pudiera ser dependiente del consumo de FD, las correlaciones se ajustaron por el consumo de FD total. Después de realizar el ajuste, las correlaciones previamente observadas entre el PD Saludable y la diversidad alfa fueron solo cercanas a la significancia (Chao1: rho = 0.104, p = 0.139; Shannon: rho = 0.086, p = 0.221), sugiriendo que la asociación entre el consumo de un PD Saludable y la diversidad de la MI puede estar influenciada por el consumo de FD. Sin embargo, al correlacionar el consumo de fibra total y los diferentes tipos de FD con los parámetros metabólicos, fueron pocas las correlaciones observadas con los parámetros bioquímicos, antropométricos, el porcentaje de grasa y el percentil de IMC (Anexo 8: Tabla 8).

Como parte del siguiente objetivo y para completar la evaluación de la MI como mediador del efecto sobre el fenotipo metabólico, se partió de los resultados previos (taxones o índices de diversidad correlacionados con los PD) para la asociación con los parámetros metabólicos. Esto con la finalidad de evaluar si las asociaciones de los PD sobre los taxones y la diversidad alfa pudieran estar mediando la asociación con los parámetros metabólicos.

De manera interesante la AR de *A. Muciniphila*, previamente correlacionada de manera positiva con el PD de Transición, correlacionó negativamente con los niveles séricos de proteína C-reactiva (rho = -0.167, pAjustada = 0.018). Además, la

AR de *Coriobacteriaceae*, correlacionó negativamente como tendencia con los niveles de CT ($\rho = -0.128$, $p_{\text{ajustada}} = 0.068$). Sin embargo, las AR de estas bacterias no fueron estadísticamente diferentes en las comparaciones con el estado nutricional (bajo peso-normopeso y sobrepeso-obesidad) o con la presencia de complicaciones metabólicas (dislipidemias, RI o el Síndrome Metabólico).

Por otro lado, la AR de *Lachnospira*, previamente correlacionada con mayor consumo del PD AOA, correlacionó negativamente como tendencia con los niveles de c-HDL ($\rho = -0.124$, $p_{\text{ajustada}} = 0.080$). Además, correlacionó negativamente con menores niveles de glucosa ($\rho = -0.181$, $p_{\text{ajustada}} = 0.010$), y positivamente con mayores niveles de GGT ($\rho = 0.140$, $p_{\text{ajustada}} = 0.047$). En cuanto a la presencia de sobrepeso-obesidad y complicaciones metabólicas, la AR de *Lachnospira* fue mayor en niños con sobrepeso-obesidad en comparación con niños en bajo peso-normopeso (1.18 % vs 0.74 % de la mediana; $p = 0.010$). Así como en niños con presencia de dislipidemias, como niveles bajos c-HDL (1.18 % vs 0.72 % de la mediana; $p = 0.060$) y niveles altos de c-LDL vs niños niveles aceptables (1.13 % vs 0.82 % de la mediana; $p = 0.032$; Figura 13 a-c).

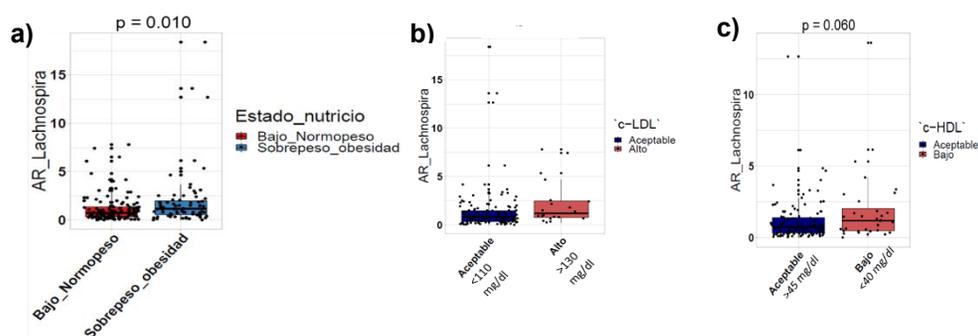


Figura 13: Gráficos de cajas y bigotes representando las comparaciones de la abundancia relativa de *Lachnospira* en el estado nutricional y dislipidemias. a) Comparación de la AR de *Lachnospira* entre el estado nutricional estratificado como bajo peso-normopeso (rojo) y sobrepeso-obesidad (azul). b) Comparación de la AR de *Lachnospira* entre los valores aceptables de c-LDL (azul) y los valores bajos de c-LDL (rosa). c) Comparación de la AR de *Lachnospira* entre los valores aceptables de c-HDL (azul) y los valores altos de c-HDL. Los datos se presentan como medianas y los extremos de los bigotes representan los cuartiles uno (abajo) y cuatro (arriba). Prueba U Mann-Whitney, significancia estadística $p < 0.05$. AR: Abundancia relativa.

Diversos estudios han sugerido que la mayor diversidad de la MI se asocia con mejor estado metabólico (6,26,69). Por ello, los índices de diversidad alfa previamente correlacionados con el PD Saludables y de FD se correlacionaron con los parámetros antropométricos, bioquímicos, clínicos y de composición corporal. Como se observa en la Tabla 13, las correlaciones entre la diversidad alfa y estos parámetros no fueron estadísticamente significativas. Además, al comparar la diversidad entre las complicaciones metabólicas (dislipidemias, RI o el Síndrome Metabólico), tampoco se observaron diferencias significativas (datos no mostrados).

Tabla 13: Correlaciones parciales entre la diversidad alfa de la microbiota intestinal y los parámetros metabólicos.

	Chao		Shannon		Simpson	
	rho	p	rho	p	rho	p
Datos antropométricos						
Cintura (cm) ^a	-0.061	0.390	-0.071	0.320	-0.066	0.353
Cadera (cm) ^a	-0.072	0.313	-0.075	0.292	-0.061	0.386
pIMC ^b	-0.051	0.466	-0.035	0.622	-0.024	0.730
Datos de Composición Corporal						
% MG ^a	-0.067	0.346	-0.060	0.397	-0.045	0.526
% MLG ^a	0.089	0.214	0.075	0.291	0.056	0.430
Datos Clínicos						
PAS (percentil) ^c	-0.057	0.419	-0.052	0.460	-0.040	0.571
PAD (percentil) ^c	0.051	0.472	0.035	0.616	0.030	0.674
Datos bioquímicos						
CT (mg/dl) ^d	-0.063	0.374	-0.041	0.567	-0.023	0.749
TG (mg/dl) ^d	-0.116	0.102	-0.113	0.112	-0.131	0.065
HDL (mg/dl) ^d	0.040	0.577	0.076	0.286	0.100	0.161
LDL (mg/dl) ^d	-0.034	0.633	-0.038	0.597	-0.029	0.688
AST (U/l) ^d	0.115	0.106	0.080	0.260	0.042	0.556
ALT (U/l) ^d	0.098	0.166	0.066	0.355	0.037	0.599
GGT (U/l) ^d	0.131	0.065	0.121	0.087	0.083	0.244
Glucosa (mg/dl) ^d	-0.048	0.502	-0.078	0.272	-0.108	0.127
Insulina ^d	-0.128	0.071	-0.126	0.076	-0.110	0.121
HOMA-IR ^d	-0.121	0.088	-0.118	0.096	-0.106	0.136
Proteína C-Reactiva (mg/dl) ^d	-0.037	0.610	-0.081	0.259	-0.070	0.326
LPS ^d	-0.105	0.193	-0.081	0.315	-0.072	0.370

a ajuste por número de secuencias, edad y sexo

b ajuste por número de secuencias.

c ajuste por número de secuencias y pIMC.

d ajuste por número de secuencias, edad, sexo y pIMC.

Prueba Spearman; n = 204

7.6.2.2. Evaluación de la microbiota intestinal como modificador del efecto dieta-fenotipo metabólico.

Como se mencionó anteriormente la segunda hipótesis de la interacción dieta-microbiota-fenotipo, establece que la MI puede actuar como un modificador del efecto entre la dieta-fenotipo metabólico. Esto es, dependiendo del perfil de MI de cada sujeto será la forma en que la dieta se metabolice y con ello su efecto en el fenotipo. Hasta el momento, una de las formas sugeridas para estratificar a la MI, es con base en los enterotipos (31). Por ello, en el presente estudio se decidió estratificar a la población por enterotipos y evaluar si las asociaciones entre la dieta y el fenotipo en ambos grupos eran diferentes.

Conforme al algoritmo establecido por Arumugam M., y colaboradores, se identificaron dos enterotipos: *Bacteroides* y *Prevotella* (71). El enterotipo *Bacteroides* se encontró en una mayor proporción de niños (66.66 %) a diferencia del enterotipo *Prevotella* (33.33 %) (Figura 14). Los parámetros metabólicos entre los enterotipos fueron similares y, por tanto, no fueron estadísticamente significativos, a excepción de los niveles de TG que fueron significativamente mayores en los niños clasificados en el enterotipo *Prevotella* (Tabla 14). Además, la MI en los niños clasificados en este enterotipo presentó menores valores de los índices de Shannon (*Prevotella*: Mediana: 0.607; RI: 0.441 – 0.740 y *Bacteroides*: Mediana: 0.690; RI: 0.582 – 0.799; p = 0.004) y Simpson (*Prevotella*: Mediana: 0.813; RI: 0.661 – 0.916 y

Bacteroides: Mediana: 0.899; RI: 0.776 – 0.0.944; $p = 0.001$) en comparación con la MI de los niños clasificados como *Bacteroides*.

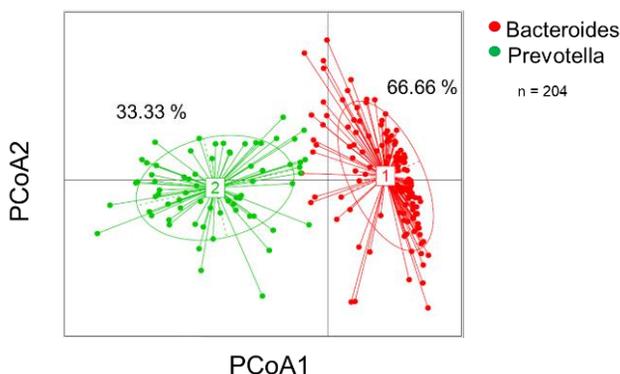


Figura 14: Análisis de coordenadas principales (PCoA) de los enterotipos identificados. En rojo se encuentra agrupado el enterotipo *Bacteroides* ($n = 136$) y en verde el enterotipo *Prevotella* ($n = 68$).

Tabla 14: Comparaciones de los diferentes parámetros metabólicos por enterotipo.

	Enterotipo <i>Bacteroides</i>		Enterotipo <i>Prevotella</i>		p
	n	Mediana (RI)	n	Mediana (RI)	
Edad (años)	136	9.56 (8.40 - 10.89)	68	9.26 (8.30 - 11.12)	0.979
Datos antropométricos					
Peso (kg)	136	33.00 (25.25 - 42.00)	68	35.00 (27.50 - 43.75)	0.321
Talla (percentil)	136	49.50 (22.75 - 76.35)	68	50.80 (33.70 - 71.68)	0.777
Cintura (cm)	136	64.25 (57.85 - 72.80)	68	67.50 (58.33 - 75.98)	0.261
Cadera (cm)	136	76.10 (68.20 - 82.98)	68	76.30 (69.03 - 87.33)	0.515
IMC (percentil)	136	68.75 (29.75 - 90.48)	68	79.95 (37.03 - 93.90)	0.193
Datos de Composición Corporal					
Grasa corporal (%)	135	30.32 (23.72 - 38.45)	68	33.77 (24.77 - 40.94)	0.226
Masa Libre de Grasa (%)	134	69.55 (61.15 - 76.03)	68	65.75 (59.43 - 74.65)	0.241
Agua Corporal Total (%)	134	51.70 (47.30 - 55.83)	68	50.60 (46.23 - 54.48)	0.345
Datos clínicos					
PAS (percentil)	136	45.90 (25.03 - 69.00)	68	45.85 (27.20 - 69.03)	0.863
PAD (percentil)	136	81.50 (66.23 - 90.25)	68	80.10 (61.95 - 89.75)	0.530
Datos bioquímicos					
Creatinina (mg / dl)	136	0.45 (0.40 - 0.51)	68	0.47 (0.40 - 0.53)	0.128
Ácido úrico (mg / dl)	136	4.50 (3.90 - 5.20)	68	4.50 (4.00 - 5.50)	0.501
Colesterol total (mg / dl)	136	163.00 (144.00 - 185.00)	68	166.50 (150.00 - 183.25)	0.409
Triglicéridos (mg / dl)	136	70.50 (51.25 - 99.50)	68	91.00 (67.25 - 134.25)	0.001
c-HDL (mg / dl)	136	47.50 (41.00 - 56.00)	68	48.00 (42.00 - 57.00)	0.994
c-LDL (mg / dl)	134	97.00 (83.75 - 114.00)	68	97.50 (82.25 - 112.75)	0.799
AST (UI / l)	136	29.00 (27.00 - 35.00)	68	29.00 (26.00 - 34.00)	0.386
ALT (UI / l)	136	20.00 (16.00 - 26.00)	68	19.00 (16.00 - 24.00)	0.622
GGT (UI / l)	136	13.00 (12.00 - 16.00)	68	13.00 (11.00 - 16.00)	0.448
Glucosa (mg / dl)	136	88.00 (85.00 - 92.00)	68	89.00 (84.25 - 93.00)	0.555
Insulina (UI / ml)	136	5.15 (3.45 - 7.45)	68	5.85 (3.83 - 9.03)	0.207
HOMA-IR	136	1.13 (0.76 - 1.69)	68	1.24 (0.82 - 2.01)	0.232
Proteína C-reactiva (mg /dl)*	135	0.07 (0.01 - 0.16)	67	0.06 (0.02 - 0.18)	0.652
LPS**	107	0.703 (0.501 - 1.382)	53	0.821 (0.396 - 1.262)	0.788

IMC: Índice de Masa Corporal; PAS: Presión Arterial Sistólica; PAD: Presión Arterial Diastólica; c-HDL: Lipoproteína de Alta Densidad; c-LDL: Lipoproteína de Baja Densidad; AST: Aspartato Aminotransferasa; ALT: Alanina Aminotransferasa; GGT: Gamma Glutamil Transferasa; HOMA-IR: Evaluación del Modelo Homeostático en Resistencia a la Insulina; LPS: Lipopolisacárido.

*n = 273

**n = 160

Prueba U de Mann-Whitney

Posteriormente y dado que se ha postulado que los enterotipos responden a diferentes dietas habituales, se realizaron comparaciones entre los factores de los PD de ambos grupos. Como se observa en la Figura 15 no se observaron diferencias significativas en el consumo de los PD o en el consumo de nutrientes (Anexo 10: Tabla 9).

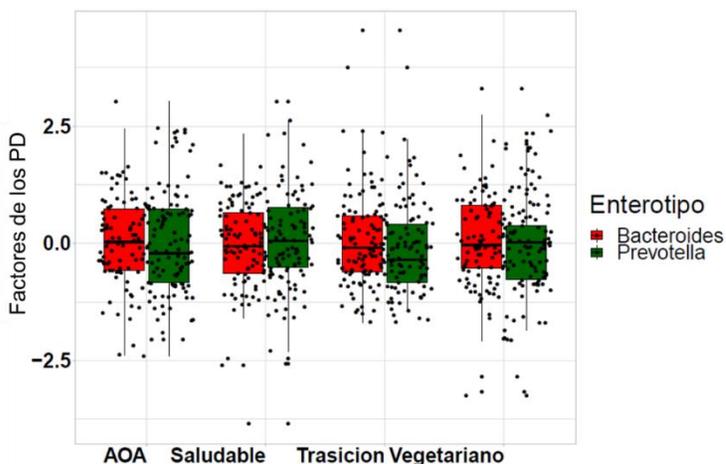


Figura 15: Gráficos de cajas y bigotes del puntaje de los patrones dietarios de los niños estratificados por enterotipo.

Con el objetivo de determinar si había asociaciones entre el consumo de los PD y los parámetros metabólicos que pudieran ser diferencialmente observadas en los enterotipos, se estratificó la muestra por enterotipos y se realizaron correlaciones Spearman entre los PD y el fenotipo metabólico. En los niños del enterotipo *Bacteroides*, y consistente con los resultados observados en toda la población de estudio, se observó que el consumo del PD Saludable correlacionó positivamente con el CT y el c-LDL. Esta asociación se observó en sentido contrario, aunque sin significancia en los niños clasificados como *Prevotella*. Por ello es posible que la asociación observada previamente en el total de la muestra ($n = 336$) pudiera estar influenciada por los niños pertenecientes al enterotipo *Bacteroides*. En este sentido, solo en los niños clasificados con el enterotipo *Bacteroides*, la correlación entre el consumo de mariscos y los niveles de CT y c-LDL fue significativa ($\rho = 0.204$, $p_{\text{ajustada}} = 0.019$; $\rho = 0.239$, $p_{\text{ajustada}} = 0.006$, respectivamente). Además, en estos niños el factor de consumo del PD Saludable correlacionó negativamente con los niveles de LPS mientras que el consumo del PD AOA correlacionó negativamente con los niveles de AST y parcialmente de manera positiva con el c-LDL. Por último, los factores de consumo del PD Vegetariano correlacionaron positivamente con AST y negativamente en tendencia con el pIMC (Figura 16).

En los niños clasificados con el enterotipo *Prevotella*, se observó una correlación positiva entre el consumo del PD Saludable y los niveles de AST. Los factores de consumo del PD AOA y el PD de Transición correlacionaron positivamente en tendencia con los niveles de proteína C-reactiva. De manera

interesante, el consumo del PD de Transición parece tener una mayor influencia sobre el fenotipo metabólico en estos niños ya que correlacionó positivamente con niveles de glucosa y TG. Por último, el consumo del PD Vegetariano correlacionó positivamente con los niveles de c-HDL, y negativamente con el pIMC (Figura 16).

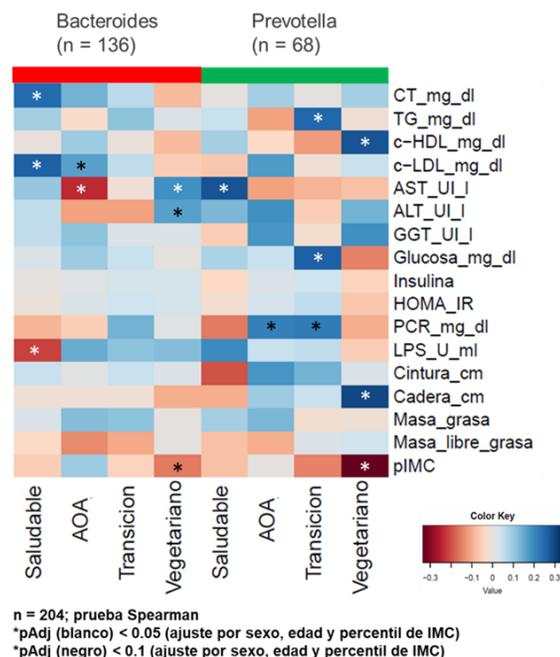


Figura 16: Mapa de calor de las correlaciones parciales entre los factores de los patrones dietarios y los parámetros metabólicos en la muestra estratificada por enterotipo. El color azul representa una correlación positiva y el color rojo representa una correlación negativa. Las correlaciones fueron ajustadas por sexo, edad, percentil de IMC. * (blanco) pAdj < 0.05 y * (negro) pAdj < 0.1. AOA: Alimentos de Origen Animal; CT: Colesterol total, TG: Triglicéridos, c-HDL: Lipoproteína de alta densidad, c-LDL: Lipoproteína de baja densidad, AST: Aspartato aminotransferasa, ALT: Alanino aminotrasferasa, GGT: Gamma glutamil transferasa, HOMA-IR: Evaluación del modelo homeostático de resistencia a la insulina, PCR: Proteína C-reactiva, LPS: Lipopolisacárido, MG: Masa Grasa, MLG: Masa libre de grasa y pIMC: Percentil del índice de masa corporal.

En la comparación del estado nutricio (bajo peso-normopeso y sobrepeso-obesidad), complicaciones metabólicas (dislipidemias, RI o Síndrome Metabólico), se observó dentro del enterotipo *Bacteroides* un mayor consumo del PD Saludable en niños con hipercolesterolemia a diferencia de los que tenían CT aceptable ($p = 0.022$; Anexo 11: Tabla 10). Dentro del enterotipo *Prevotella*, se observó un mayor consumo del PD Vegetariano tanto en niños con bajo peso-normopeso en comparación con los niños con sobrepeso-obesidad ($p = 0.001$), como en niños sin vs con Síndrome Metabólico ($p = 0.048$), así como en niños con niveles aceptables de c-HDL en comparación con niños con hipoalfalipoproteinemia ($p = 0.003$; Anexo 11: Tabla 11).

7.6.2.3. Evaluación de la microbiota intestinal como modificador del efecto fibra dietaria-fenotipo metabólico.

Con base en los hallazgos previos y considerando que una de las relaciones dieta-fenotipo metabólico más reportada en estudios previos es principalmente con el consumo de FD, en esta sección se evaluó la relación entre los diferentes tipos de FD y los parámetros metabólicos en cada uno de los enterotipos. De manera interesante, las correlaciones entre el consumo de FD, particularmente la fibra insoluble y algunos rasgos metabólicos tuvieron sentidos opuestos entre los enterotipos. En los niños del enterotipo *Bacteroides*, el consumo de celulosa correlacionó negativamente con la circunferencia de cadera y con el percentil de IMC (pAjustada < 0.05), aunque esto se observó en niños con el enterotipo *Prevotella* en el mismo sentido. En niños del enterotipo *Prevotella*, se observó que el consumo de fibra insoluble correlacionó negativamente con el CT (pAjustada < 0.05), y como tendencia con los niveles de insulina y HOMA-IR. Particularmente, en este enterotipo mayor consumo de hemicelulosa correlacionó con menores niveles insulina y HOMA-IR (pAjustada < 0.05). Mientras que en niños en el enterotipo *Bacteroides*, esta correlación se observó en el sentido contrario (Figura 17).

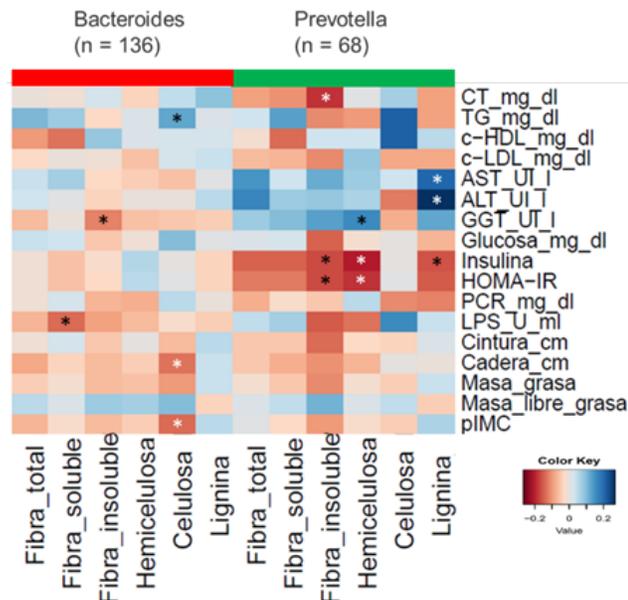


Figura 17: Mapa de calor de las correlaciones parciales entre el consumo de fibra dietaria y los parámetros metabólicos en la muestra estratificada por enterotipo. El color azul representa una correlación positiva y el color rojo representa una correlación negativa. Las correlaciones fueron ajustadas por sexo, edad, percentil de IMC. * (blanco) pAdj < 0.05 y * (negro) pAdj < 0.1. CT: Colesterol total, TG: Triglicéridos, c-HDL: Lipoproteína de alta densidad, c-LDL: Lipoproteína de baja densidad, AST: Aspartato aminotransferasa, ALT: Alanino aminotrasferasa, GGT: Gamma glutamil transferasa, HOMA-IR: Evaluación del modelo homeostático de resistencia a la insulina, PCR: Proteína C-reactiva, LPS: Lipopolisacárido, MG: Masa Grasa, MLG: Masa libre de grasa y pIMC: Percentil del índice de masa corporal.

Considerando la asociación previamente observada entre el consumo de FD y los índices de diversidad alfa, y con el fin de determinar si este rasgo de la MI podría estar influenciando la relación dieta-fenotipo metabólico en los diferentes enterotipos, se realizaron correlaciones entre los índices de diversidad alfa y los parámetros metabólicos. De manera interesante, solo en niños con un enterotipo de *Prevotella* se observaron correlaciones negativas entre los tres índices de diversidad alfa y los niveles de insulina y HOMA-IR, así como de Shannon y Simpson con los niveles de glucosa (Figura 18). A pesar de los resultados anteriores, las comparaciones de los valores de diversidad alfa entre los niños con o sin RI, no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

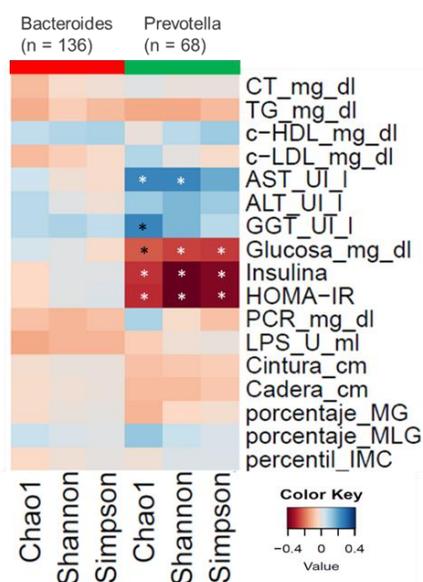


Figura 18: Mapa de calor de las correlaciones parciales entre los índices de diversidad alfa de la microbiota intestinal y los parámetros metabólicos en la muestra estratificada por enterotipo. El color azul representa una correlación positiva y el color rojo representa una correlación negativa. Las correlaciones fueron ajustadas por sexo, edad o percentil de IMC. * (blanco) $p_{Adj} < 0.05$ y * (negro) $p_{Adj} < 0.1$. CT: Colesterol total, TG: Triglicéridos, c-HDL: Lipoproteína de alta densidad, c-LDL: Lipoproteína de baja densidad, AST: Aspartato aminotransferasa, ALT: Alanino aminotrasferasa, GGT: Gamma glutamil transferasa, HOMA-IR: Evaluación del modelo homeostático de resistencia a la insulina, PCR: Proteína C-reactiva, LPS: Lipopolisacárido, MG: Masa Grasa, MLG: Masa libre de grasa y pIMC: Percentil del índice de masa corporal.

Para determinar si dentro de los enterotipos algún taxón en particular se asociaba con el consumo de los diferentes tipos de FD, se realizaron correlaciones con la taxonomía a nivel de familia y género. Aunque algunos taxones correlacionaron con el consumo de fibra insoluble, hemicelulosa y celulosa a nivel nominal ($p < 0.05$), ninguna de estas correlaciones permaneció significativa después de la corrección por FDR (Figura 19a-b).

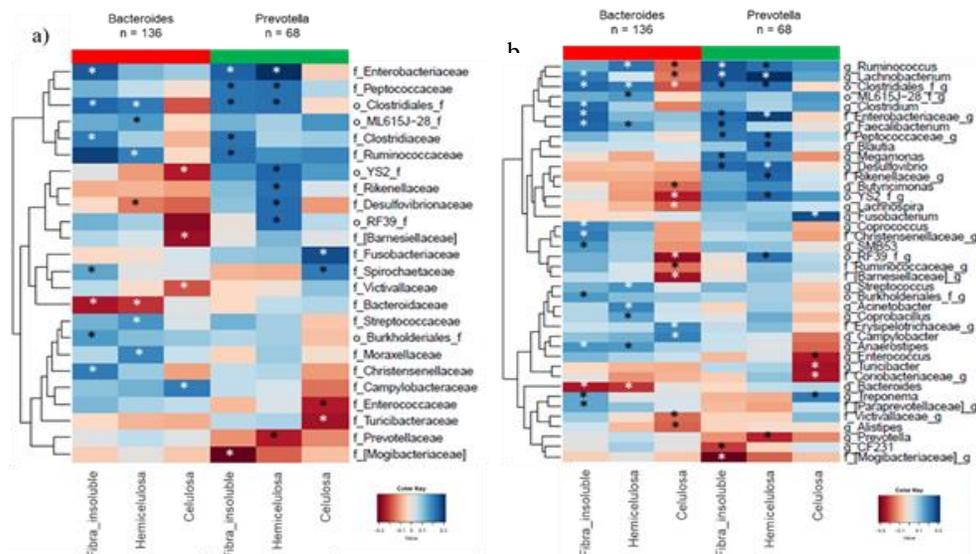


Figura 19: Mapa de calor de las correlaciones parciales entre la fibra insoluble-hemicelulosa y celulosa con la taxonomía a nivel de: a) Familia y b) Género. El color azul representa una correlación positiva y el color rojo representa una correlación negativa. Las correlaciones fueron ajustadas por sexo y edad * (blanco) pAdj < 0.05 y * (negro) pAdj < 0.1.

Por último, con la finalidad de identificar dentro del enterotipo *Prevotella* cuáles GA podrían estar influenciando mayormente las asociaciones observadas con la fibra insoluble y la hemicelulosa, se correlacionaron los GA con estos dos tipos de fibra. Los tres principales GA que correlacionaron con ambos tipos de fibra fueron: las leguminosas, las verduras y las frutas (Tabla 15).

Tabla 15: Correlación entre la fibra insoluble y la hemicelulosa con el consumo de los GA frutas, verduras y leguminosas en los niños estratificados con el enterotipo *Prevotella*.

	Fibra insoluble*		Hemicelulosa*	
	rho	p	rho	p
Leguminosas**	0.584	1.756E-07	0.684	1.284E-10
Verduras**	0.295	1.470E-02	0.351	3.324E-03
Frutas**	0.254	3.690E-02	0.294	1.513E-02

*Ajustado por 1000 kilocalorías/día

**Consumo ajustado por kilocalorías totales

Posteriormente se evaluó si el consumo de estos GA de manera independiente se asociaba con la diversidad alfa de la MI y con los niveles de insulina y HOMA-IR, solo en los sujetos con un enterotipo *Prevotella*. El consumo de fruta correlacionó positivamente con la diversidad Shannon y Simpson (rho = 0.368, pAjustada = 0.003; rho = 0.349, pAjustada = 0.005, respectivamente). Además, se observó una tendencia en la correlación del consumo de fruta con los niveles de insulina y HOMA-IR (rho = -0.240, pAjustada = 0.054; rho = -0.223, pAjustada =

0.074, respectivamente). Sin embargo, no se observó significancia estadística en las correlaciones entre las leguminosas y las verduras con los índices de diversidad alfa de la MI (datos no mostrados).

7.6.3. Predicción de la funcionalidad de la microbiota intestinal

Como parte del último objetivo del proyecto, se infirió la funcionalidad de la MI mediante PICRUSt. Primero se calculó el valor de NSTI, el cual tuvo una mediana de 0.088 (RI: 0.069 – 0.100) indicando una buena predicción de los amplicones 16S rRNA al metagenoma. PICRUSt clasifica los resultados de las predicciones funcionales en 3 niveles, los cuales van de un nivel 1 con funciones generales hasta el nivel 3 con funciones más específicas dentro de cada nivel 1. Considerando que la inferencia de funcionalidad se realiza con base en la enciclopedia del KEGG, la cual incluye vías relacionadas con el genoma humano y vías propias de las bacterias, en este estudio se seleccionó en el nivel 1 la clasificación de “Metabolismo”, dentro de éste se incluyeron en el nivel 2, 12 vías funcionales (Apéndice; Anexo 12: Tabla 12) que han sido previamente utilizadas en otro estudio (142).

En segundo lugar, se correlacionaron los factores de consumo de los PD, así como el consumo de fibra insoluble y hemicelulosa con las 12 vías funcionales del metabolismo en el total de la muestra (n = 204). El PD Saludable correlacionó negativamente solo con la vía de “Biosíntesis y Metabolismo de Glicanos” de las bacterias antes de realizar la corrección por FDR ($\rho = -0.168$, $p_{\text{ajustada}} = 0.017$; $p_{\text{FDR}} = 0.176$), mientras que el resto de los PD no tuvieron correlaciones estadísticamente significativas. Además, tampoco se observó ninguna correlación significativa entre el consumo de la fibra insoluble y la hemicelulosa con las 12 vías funcionales (datos no mostrados).

En tercer lugar, y dado que en el enterotipo *Prevotella* se observaron mayores correlaciones significativas entre la dieta y el fenotipo metabólico, se realizaron nuevamente las correlaciones entre los factores de consumo de los PD, la fibra insoluble y hemicelulosa con las 12 vías funcionales, solo en los niños con el enterotipo *Prevotella* (n = 68). Sin embargo, no se observaron correlaciones significativas (datos no mostrados).

8. Discusión

En este estudio en niños mexicanos se identificaron cuatro PD: Saludable, AOA, Transición y Vegetariano. Los primeros tres PD han sido descritos previamente en niños, adolescentes y adultos en México, así como en otros países, pero con pequeñas variaciones en la composición de algunos de los alimentos, debido a la costumbre de cada país. En contraste, el PD Vegetariano no había sido reportado en niños a través del PCA como se realizó en este estudio, posiblemente debido a que aún es escasa la evidencia en niños y adolescentes en el mundo, especialmente en México (18,20,55,145,146).

8.1. Patrones dietarios y rasgos metabólicos

El estado nutricional (normopeso vs sobrepeso-obesidad), así como la presencia de complicaciones metabólicas están influenciadas por diferentes factores como la dieta. En años recientes el estudio de la dieta a través de PD ha cobrado relevancia en la prevención y disminución de diferentes enfermedades, debido a la interacción entre los diferentes nutrientes y alimentos que forman parte de la dieta del hombre (5).

En este estudio, el PD Vegetariano y el de AOA mostraron tener el mayor efecto sobre el fenotipo metabólico. Aunque en niños la asociación entre un mayor consumo de un PD Vegetariano con el estado nutricional no es clara, estudios previos en adultos, han mostrado de manera consistente la asociación de este tipo de PD (rico en alimentos como frutas, verduras, granos enteros, leguminosas y nueces) con un menor riesgo de presentar sobrepeso u obesidad (147–149).

Aunque el mecanismo detrás de esta relación no es del todo claro, se ha postulado que puede ser por el conjunto de alimentos, los cuales tienen una menor densidad energética, mayor contenido de fibra y fitoquímicos. En este sentido, los compuestos anteriores se han asociado con una disminución o mantenimiento del peso corporal. Además, se ha propuesto que esta relación dieta-fenotipo metabólico, pudiera ser influenciada por la estructura de la microbiota y/o la producción de metabolitos bacterianos como los AGCC (11,87,148,150–153).

Además, algunos estudios con dietas vegetarianas muestran que el mayor consumo de grasas de origen vegetal, asociadas mayormente en este estudio con el PD Vegetariano, se relaciona con mayor gasto energético en reposo. Por tanto, es factible especular que el consumo de un PD estilo vegetariano podría ayudar a prevenir la presencia de sobrepeso y obesidad en niños. Sin embargo, se necesitan más estudios en población mexicana para comprobar este hallazgo, ya que según un metaanálisis la pérdida de peso en niños no ha sido consistente en estudios de intervención con dietas vegetarianas (154,155).

El PD AOA (rico en carne roja, pescado, pollo, embutidos, huevo, dulces y postres, y asociado al porcentaje de consumo de proteínas y grasas), se asoció con un 68.9 % más riesgo de presentar niveles elevados de c-LDL en este estudio. Aunque son escasos los estudios en niños que reportan el consumo de este tipo de PD, en adolescentes mexicanos, se observó que aquellos con un mayor consumo de un PD alto en proteínas y grasas presentaban una mayor prevalencia de obesidad, aunque no reportaron datos del perfil de lípidos. En adultos, se ha observado de manera consistente que el mayor consumo del PD Carne-Comida instantánea y PD Carne se asocia con mayores niveles de CT y c-LDL (20,156).

Dado que el PD AOA es rico en colesterol y grasa de origen animal, es posible que esto pueda influir en los mayores niveles de CT y c-LDL observados. En este sentido, el mayor consumo de grasa saturada, característica de las carnes rojas, puede incrementar los niveles de c-LDL, y el mayor consumo de colesterol a través de este PD favorecer mayores niveles de CT y de c-LDL (156–158).

De manera interesante, se ha postulado que la MI también participa en el mecanismo por el cual el consumo de un PD AOA puede llevar a alteraciones en el perfil de lípidos en suero y con ello, a la presencia de complicaciones cardiovasculares. Particularmente, el estudio de Koeth RA., y colaboradores, demostró que, en personas con dietas omnívoras, ricas en el consumo de carnes rojas, huevo y grasas, pueden tener un incremento de metabolitos bacterianos como el óxido de trimetilamina (TMAO, por sus siglas en inglés), que interviene en la patogénesis de enfermedades cardiovasculares. Además, otros estudios han reportado que, a través del consumo de este tipo de PD también pueden incrementarse los niveles AGCC y con ello la lipogénesis en hígado. Por lo cual sería interesante evaluar si en los niños con mayor consumo de PD de AOA en efecto hay un aumento en los niveles de estos metabolitos y, si esto se asocia con el aumento observado en los niveles de colesterol (9,87,159,160).

8.2. Patrones dietarios, microbiota intestinal y fenotipo metabólico

Como ya se ha mencionado previamente, la interacción dieta-MI-fenotipo metabólico puede evaluarse de dos maneras, la primera en donde la dieta influye directamente a la MI y con ello, a la fisiología del hospedero (la MI actúa como mediador del efecto) y la segunda en donde el perfil o patrón de la MI de cada individuo puede determinar cómo se metabolizan los componentes dietarios teniendo un efecto diferencial sobre el metabolismo del hospedero (la MI actúa como modificador del efecto) (11).

8.2.1. La microbiota intestinal como mediador del efecto entre el consumo de la dieta habitual con el fenotipo metabólico.

Tomando en cuenta el análisis de la interacción de la MI como mediador del efecto, en este estudio se observó a nivel taxonómico, que un mayor consumo del PD de Transición, alto en grasas y bajo en FD, se asoció de manera positiva con la AR de *A. muciniphila*. Esta bacteria gram-negativa, es degradadora de la mucosa intestinal y productora de LPS. De manera consistente con lo observado en este estudio, en ratones se ha encontrado un incremento en la AR de *A. muciniphila* cuando la dieta es alta en el contenido de grasa e incluye sacarosa. Además, se ha reportado que este taxón puede incrementarse al consumir una dieta libre de fibra (161–165).

De manera concomitante, se observó una asociación negativa entre *A. muciniphila* y proteína C-reactiva, que además correlacionó en tendencia positiva con el PD de Transición. Aunque en humanos la evidencia aún es limitada, en ratones este taxón se ha relacionado con menores niveles de otros marcadores de inflamación como IL-6 o NF-κB. Por lo que, si bien *A. muciniphila* podría tener un papel protector sobre la inflamación en niños que consumen un PD de Transición, aún son necesarios más estudios que profundicen en los posibles mecanismos de la interacción entre la dieta, *A. muciniphila* y el fenotipo en niños (99,106,107).

De manera interesante, el consumo del PD AOA, asociado positivamente con el género *Lachnospira* (bacteria gram-positiva, flagelada, anaerobia estricta y productora de butirato), se encontró en mayor AR en personas con sobrepeso u obesidad, y en niños con dislipidemias. Este taxón se ha asociado con obesidad, DMT2 y mayores niveles de presión arterial, por lo que pudiera ser relevante para el estudio con enfermedades crónicas. Aunque la relación de la dieta con la abundancia de este taxón no ha sido consistente, un estudio en humanos reportó mayor abundancia de este taxón con un mayor consumo de grasas, así como también en dietas caracterizadas por el consumo de proteínas. En conjunto, este tipo de PD ha sido previamente asociado con mayor prevalencia de obesidad en adolescentes mexicanos y también se ha observado mayor AR de *Lachnospira* en niños con obesidad y Síndrome Metabólico en México. Por ello, y aunque la naturaleza transversal de este estudio no permite establecer causa o consecuencia, podríamos especular que el contenido de grasas y proteínas del PD AOA pudiera contribuir a la mayor AR de *Lachnospira* y, que este taxón fuera el mediador de una mayor prevalencia de sobrepeso-obesidad y dislipidemias en estos niños (9,20,98,166,167).

El mecanismo por el cual *Lachnospira* pudiera ser un posible mediador entre el efecto del PD AOA y el sobrepeso-obesidad y dislipidemias aún no se conoce. Sin embargo, como se mencionó previamente, se ha reportado que la familia de *Lachnospira* (*Lachnospiraceae*) es productora de butirato. Aunque este metabolito

es principalmente producto de la fermentación de FD, también se ha reportado que puede producirse a través de la fermentación de péptidos o proteínas mediante las vías de lisina, glutarato y 4-aminobutirato. En este sentido, un estudio *in vitro* reportó un incremento en *Lachnospiraceae* en un medio fermentador de proteínas, lo que podría inducir la producción de butirato a través de esta familia con las proteínas como sustrato (Figura 20) (160,168).

El efecto del butirato sobre la fisiología del hospedero ha sido controversial. Aunque la mayoría de los estudios proponen que este metabolito puede tener efectos antiinflamatorios y así, mejorar la sensibilidad a la insulina, otros autores sugieren que al ser el principal AGCC que utilizan los colonocitos como fuente de energía, pudiera incrementar el aporte calórico a través de la dieta y, por tanto, la ganancia de peso. Además, de que puede favorecer la biosíntesis de lípidos en hígado (ácidos grasos, colesterol y cuerpos cetónicos) a partir de butiril conenzima A (CoA) que es transferido al acetato vía butiril-CoA:acetatoCoA transferasa, dando lugar a la formación de acetyl-CoA, lo que podría relacionarse con mayor prevalencia de dislipidemias. Sin embargo, se desconoce si *Lachnospira* a través de la producción de butirato por la degradación de proteínas y péptidos pudiera estar promoviendo mayores niveles de c-LDL, especialmente en el consumo de una dieta alta en AOA (90,101,169–171).

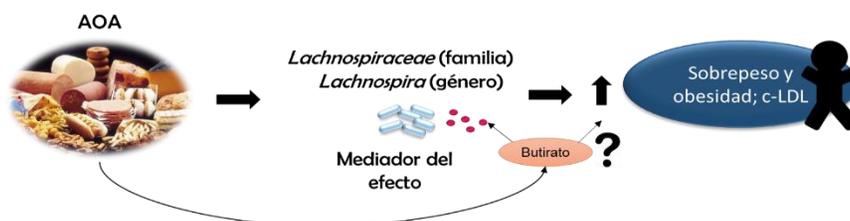


Figura 20: Efecto mediador propuesto para *Lachnospira* en el consumo de un patrón dietario de Alimentos de Origen Animal sobre el sobrepeso-obesidad y dislipidemia.

En este estudio el mayor consumo de un PD Saludable, alto en frutas, pescado, verduras, leguminosas y mariscos, se asoció con dos de los tres indicadores evaluados de diversidad alfa. Esto es consistente con estudios previos, donde la MI de los sujetos que consumen dietas habituales ricas en alimentos como pescado, fruta, verdura, y bajas en carnes rojas, carbohidratos refinados y dulces, presentan mayor diversidad alfa. Es importante mencionar que los estudios anteriores se han realizado principalmente en poblaciones contrastantes, por lo que no se puede descartar que el efecto en la diversidad sea por otros factores ambientales como la región geográfica o el estilo de vida (22–24,29,74,78,79,172).

En este sentido, y hasta nuestro conocimiento, solo cuatro estudios han evaluado la relación entre el consumo de PD con la MI en una misma población. Sin embargo, solo Chun Kong L, y colaboradores observaron una mayor diversidad de la MI en los adultos agrupados en el clúster rico en frutas, yogurt y sopa de verduras,

y con menor consumo de dulces, postres, azúcar y bebidas dulces. Sin embargo, el resto de los estudios no ha observado una relación clara entre los PD y la diversidad alfa de MI. Siendo este el primer estudio en niños escolares que reporta la asociación entre un PD Saludable con la mayor diversidad alfa de la MI (51,173–175).

Los GA: Frutas, verduras y leguminosas característicos de un PD Saludable, se clasifican como alimentos con un alto contenido de FD. Este componente de la dieta, es decir la FD, es necesario en una dieta clasificada como saludable, y su consumo se ha asociado con mayor diversidad de la MI. De manera interesante en este estudio, fue el consumo de fibra insoluble y, particularmente de hemicelulosa, el que correlacionó con los tres índices de diversidad alfa. Por lo que la asociación del PD Saludable con la diversidad podría estar influenciada por el contenido de este tipo de FD. Sin embargo, otros componentes del PD como los fitoquímicos o el almidón resistente encontrados en algunas frutas, verduras, cereales de grano entero o leguminosas, también pudieran ser responsables del efecto en la diversidad (24,150,176–181).

La diversidad alfa de la MI, se considera de gran importancia debido a que una mayor diversidad se asocia de manera general con un mejor estado de salud y menores complicaciones metabólicas. Sin embargo, en este estudio no se observaron asociaciones significativas entre los índices de diversidad alfa de la MI y los parámetros o complicaciones metabólicas. Así como tampoco de la FD con los rasgos metabólicos. Si bien los beneficios metabólicos del consumo de FD han sido reportados en múltiples estudios, particularmente sobre la homeostasis de la glucosa, se ha sugerido que existe una gran variabilidad entre individuos en la manera en que pueden responder al consumo de los alimentos, lo que pudiera ser explicado entre otros factores, por la MI. Esto sugiere que al menos la MI al ser evaluada a nivel de diversidad alfa podría no estar actuando como un mediador entre la relación dieta-fenotipo metabólico, y abre la posibilidad de evaluarla como un modificador del efecto de la relación dieta-fenotipo (10,11,30,69,179,182,183).

8.2.2. La microbiota intestinal como modificador del efecto del consumo de la dieta habitual con el fenotipo metabólico.

Los enterotipos, como perfiles de la MI son actualmente de gran interés, ya que se han establecido como una forma de estratificar a la MI para evaluar la respuesta del fenotipo a la dieta habitual. Esto es porque se ha documentado que los enterotipos (especialmente *Prevotella* y *Bacteroides*), evaluados previamente a una intervención dietaria, pueden influir en la interacción dieta-fenotipo metabólico.

En este estudio se identificaron dos enterotipos nombrados como *Prevotella* y *Bacteroides*, en los cuales se observaron asociaciones potencialmente

interesantes entre el consumo de los PD y la presencia de complicaciones metabólicas.

De manera interesante en los niños clasificados como *Bacteroides*, el consumo de un PD Saludable se asoció con mayores niveles de CT y c-LDL, particularmente mediado por el consumo de mariscos. Esto es consistente con estudios previos en donde el consumo de mariscos, como el camarón, puede incrementar los niveles en suero de CT y c-LDL. Sin embargo, a pesar de que el consumo de mariscos entre enterotipos fue similar, en los niños clasificados como enterotipo *Prevotella* esta asociación no se presentó. Los mayores niveles de CT y c-LDL solo en el enterotipo *Bacteroides*, resulta de gran interés debido a que ambos parámetros bioquímicos son factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares (144).

Estudios en ratones han reportado que la MI contribuye a la regulación del metabolismo del colesterol. En ratones con tratamiento con antibióticos, se observó un incremento en la absorción intestinal de colesterol y en la biosíntesis de colesterol en hígado, en comparación con los ratones controles. Además, en ratones trasplantados con MI de mujeres con niveles elevados de CT y c-LDL, se reportó un incremento en la abundancia de un ASV perteneciente al género *Bacteroides*, el cual también correlacionó con la absorción de colesterol en yeyuno. Por ello, es posible que la MI de los niños con un enterotipo *Bacteroides* y que consumen alimentos ricos en colesterol pudiera influenciar la absorción de colesterol y con ello derivar en mayores niveles de CT y c-LDL, en comparación con los niños en un enterotipo *Prevotella* (103).

En los niños clasificados en el enterotipo *Prevotella*, aquellos con un mayor consumo del PD Vegetariano presentaron un perfil metabólico más saludable (normopeso, niveles aceptables de c-HDL y sin Síndrome Metabólico). Esto es parcialmente consistente con estudios en niños de África (Burkina Faso) y de Filipinas (Baybay), los cuales reportaron tener una dieta habitual predominantemente vegetariana, con alimentos típicos ricos en FD, así como una MI con mayor AR de *Prevotella* (en niños de Burkina Faso) o pertenecientes a un enterotipo *Prevotella* (en niños de Baybay), y que además fueron clasificados mayormente como niños con normopeso (22,23).

Incluso, en este estudio se observó que solo en niños clasificados con un enterotipo *Prevotella*, el consumo de fibra insoluble y particularmente de hemicelulosa se asoció inversamente con los niveles de insulina y de HOMA-IR. Considerando que no existen diferencias en el consumo de este tipo de fibra entre enterotipos, podemos especular que los niños clasificados con el enterotipo *Prevotella* podrían ser más responsivos al consumo de este tipo de FD, y con ello mostrar mejoras sobre parámetros metabólicos como los niveles de insulina en suero (31,113).

Algunos estudios han observado que el mayor consumo de alimentos ricos en fibra insoluble puede mejorar los marcadores de la RI, aunque el mecanismo no es claro. De hecho la relación de la fibra insoluble con los marcadores de la RI se ha cuestionado en estudios previos, pues esta fibra carece de las propiedades fisicoquímicas que se han asociado con mejoras en la RI como la formación de geles, viscosidad y se consideraba de poca fermentación en colon (182,184).

De manera general la fibra insoluble constituida por hemicelulosa, celulosa, lignina y el almidón resistente, se considera menos fermentable por la MI que la fibra soluble. A pesar de esto se ha observado que la fibra insoluble también puede ser aprovechada por ciertas bacterias de la MI, debido a la presencia de enzimas degradadores de hemicelulosa y celulosa que, además pueden producir AGCC, especialmente propionato. Resultados de un estudio *in vitro* donde se cultivaron fracciones diferentes de fibra insoluble, proponen que la producción de AGCC, especialmente propionato, por bacterias del género *Prevotella* pudiera estar interviniendo en los menores niveles de HOMA-IR e insulina. Particularmente se ha observado que especies de *Prevotella* pueden responder al consumo de dietas ricas en arabinosilanos, que son compuestos que forman parte de las fibras insolubles. Esto puede promover el incremento en los AGCC, especialmente de propionato, en un enterotipo *Prevotella* a diferencia del enterotipo *Bacteroides*, donde la producción de este AGCC es baja con este tipo de FD. Uno de los mecanismos propuestos por el que los AGCC podrían contribuir a la menor RI es, de manera indirecta, a través de la secreción de enterohormonas liberadas de células L intestinales como GLP-1, que es dependiente de los receptores de AGCC, y que puede estimular la sensibilidad de la insulina en hígado y músculo (31,87,185).

Si bien la fibra insoluble y la hemicelulosa se asociaron con mayor diversidad de la MI, y con menores niveles en los marcadores de RI aún no es claro qué tipo de bacterias podrían estar involucradas en este efecto. De hecho, en el presente estudio ninguna de las asociaciones entre la FD y los géneros de bacterias fue significativa después de la corrección por FDR. Un estudio previo de suplementación de almidón resistente, considerado como una fibra insoluble, observaron un incremento en *Ruminococcus bromii*, una bacteria que es degradadora secundaria de carbohidratos complejos, y que contribuye a la producción de AGCC. Dado que este tipo de metabolitos de origen bacteriano podría influir sobre la respuesta a la RI, sería interesante evaluar en este estudio si los niveles de AGCC en estos niños se relacionan con los marcadores de RI (87,187–189).

Por último, con la finalidad de identificar si algún GA influenciaba mayormente la relación fibra insoluble-RI en los niños del enterotipo *Prevotella*, se realizaron asociaciones de los GA que más correlacionaban con el consumo de este componente dietario. Aunque las frutas, reconocidas por su contenido de fibra insoluble, menor densidad energética y como fuente importante de micronutrientes

Otras limitantes son la falta en la estratificación por sexo-edad para el análisis en los PD o la MI y, que no se contó con una escala de Tanner para poder evaluar con certeza la maduración sexual de los niños presentes en la muestra. Sin embargo, consideramos que el tamaño de la muestra después de estratificar los datos no daría un poder lo suficientemente significativo para observar asociaciones. Por ello, y en un esfuerzo de subsanar esta carencia, los datos fueron ajustados en todo momento por sexo y edad. Por último, la herramienta de la EFCA, al ser respondida por los padres de familia puede tener sesgo de memoria, pudiendo limitar la información sobre lo que el niño realmente ingiere. Sin embargo, la EFCA es una de las herramientas más empleadas en estudios epidemiológicos, debido a que es rápida de contestar, está validada en México y es barata al aplicarla en una población.

9. Conclusiones

En el presente estudio realizado en población escolar mexicana, se identificaron cuatro PD: Saludable, AOA, Transición y Vegetariano, los cuales se asociaron con algunas complicaciones metabólicas, el menor riesgo de sobrepeso-obesidad.

El consumo del PD Alimentos de Origen Animal, a través de *Lachnospira*, el cual podría estar actuando como un mediador del efecto, se relacionó con mayor riesgo de sobrepeso-obesidad y dislipidemias en niños. Sin embargo, el mecanismo por el cual *Lachnospira* podría estar actuando como un mediador entre este PD y este fenotipo aún no es claro.

Los niños con un consumo del PD Saludable, caracterizado por el consumo de frutas, verduras y leguminosas, tuvieron una mayor diversidad de la MI, posiblemente influenciado por el consumo de FD, especialmente de fibra insoluble y hemicelulosa. Sin embargo, solo en aquellos clasificados en el enterotipo *Prevotella*, el consumo de fibra insoluble y hemicelulosa se asoció con mejores niveles en los marcadores de la RI. Proponiendo a este enterotipo como un modificador del efecto en la interacción del consumo de fibra insoluble-hemicelulosa y los marcadores de la RI.

Por otro lado, solo en niños clasificados con el enterotipo *Bacteroides* el consumo de alimentos ricos en colesterol como los mariscos, que se caracterizaron en el PD Saludable, se asociaron con la presencia de dislipidemias, posiblemente debido a la influencia de los *Bacteroides* en la absorción de este nutriente.

Por último, solo en los niños clasificados en el enterotipo *Prevotella*, aquellos que tuvieron un mayor consumo de un PD Vegetariano presentaron un mejor perfil metabólico.

Los hallazgos anteriores resaltan la importancia del estudio de los PD y los alimentos que los conforman, así como de los perfiles de MI, para el entendimiento de la interacción entre la dieta y el fenotipo metabólico. Particularmente, la clasificación de la MI podría incrementar la eficacia en intervenciones dietarias sobre enfermedades metabólicas y así ser de gran importancia para futuras recomendaciones nutricias, a nivel de la nutrición personalizada.

10.Perspectivas

Con base en los hallazgos del presente trabajo se proponen como perspectivas realizar estudios de intervención para evaluar, en primer lugar, el efecto modificador de *Prevotella* en el consumo de alimentos ricos en fibra insoluble, sobre la respuesta en marcadores de RI, así como evaluar los metabolitos que pudieran ser parte del mecanismo, como los AGCC. Además, también se considera importante determinar si el consumo de alimentos ricos en proteínas y grasas saturadas incrementa la abundancia de *Lachnospira*, y ésta con las complicaciones metabólicas, a través de mecanismos relacionados con los AGCC.

11.Literatura citada

1. Adela Hruby, PhD M, Frank B. Hu, MD, PhD M. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics*. 2015;33(7):673–89.
2. Bass R, Eneli I. Severe childhood obesity: An under-recognised and growing health problem. *Postgrad Med J*. 2015;91(1081):639–45.
3. Aceves-Martins M, Llaurodo E, Tarro L, Solà R, Giralt M. Obesity - promoting factors in Mexican children and adolescents : challenges and opportunities. *Glob Health Action*. 2016;9:29625.
4. Shamah-Levy T, Cuevas-Nasu L, Gaona-Pineda EB, Gómez-Acosta LM, Morales-Rúan MDC, Hernández-Ávila M, et al. Sobrepeso y obesidad en niños y adolescentes en México, actualización de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. *Salud Publica Mex*. 2018;60(3, may-jun):244.
5. Newby PK, Sc D, Tucker KL, Ph D. Empirically Derived Eating Patterns Using Factor or Cluster Analysis : A Review. 2004;(May):177–203.
6. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature [Internet]*. 2013;500(7464):585–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23985875>
7. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature [Internet]*. 2006;444(7122):1022–3. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/4441022a>
8. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature [Internet]*. 2009;457(7228):480–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nature07540>
9. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature [Internet]*. 2014;505(7484):559–63. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3957428&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
10. Menni C, Jackson MA, Pallister T, Steves CJ, Spector TD, Valdes AM. Gut microbiome diversity and high-fibre intake are related to lower long-term weight gain. *Int J Obes*. 2017;41(7):1099–105.
11. Hughes RL, Kable ME, Marco M, Keim NL. The Role of the Gut Microbiome in Predicting Response to Diet and the Development of Precision Nutrition Models. Part II: Results. *Adv Nutr*. 2019;1–26.
12. Dibonaventura MD, Meincke H, Lay A Le, Fournier J, Bakker E, Ehrenreich A. Obesity in Mexico: Prevalence, comorbidities, associations with patient

- outcomes, and treatment experiences. *Diabetes, Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2018;11:1–10.
13. Organization WH. Childhood obesity [Internet]. 2012. Available from: http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/Childhood_obesity_Tool.pdf
 14. Defining Childhood Obesity | Overweight & Obesity | CDC [Internet]. 2017. Available from: <https://www.cdc.gov/obesity/childhood/defining.html>
 15. Aa MP Van Der, Knibbe CAJ, Boer A De, Vorst MMJ Van Der. Definition of insulin resistance affects prevalence rate in pediatric patients : a systematic review and call for consensus. 2016;
 16. Ortiz-Hernández L, Delgado-Sánchez G, Hernández-Briones A. Cambios en factores relacionados con la transición. *Gac Med Mex.* 2006;142(3):181–93.
 17. Rivera, Juan A; Brquera, Simón; González-Cossío, Teresa; Olaiz, Gustavo; Sepúlveda J. Nutrition Transition in Mexico and in Other Latin American Countries. *Nutr Rev.* 2004;62(July):8–12.
 18. Romero-Polvo A, Denova-Gutiérrez E, Rivera-Paredes B, Castañón S, Gallegos-Carrillo K, Halley-Castillo E, et al. Association between dietary patterns and insulin resistance in mexican children and adolescents. *Ann Nutr Metab.* 2012;61(2):142–50.
 19. Shang X, Li Y, Liu A, Zhang Q, Hu X, Du S, et al. Dietary pattern and its association with the prevalence of obesity and related cardiometabolic risk factors among chinese children. *PLoS One.* 2012;7(8).
 20. Gutiérrez-Pliego LE, Del Socorro Camarillo-Romero E, Montenegro-Morales LP, De Jesus Garduño-García J. Dietary patterns associated with body mass index (BMI) and lifestyle in Mexican adolescents. *BMC Public Health* [Internet]. 2016;16(1):1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12889-016-3527-6>
 21. Mishra AK, Dubey V, Ghosh AR. Obesity: An overview of possible role(s) of gut hormones, lipid sensing and gut microbiota. *Metabolism* [Internet]. 2016;65(1):48–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2015.10.008>
 22. Filippo C De, Cavalieri D, Di M, Ramazzotti M, Baptiste J. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. 2010;107(33).
 23. Nakayama J, Yamamoto A, Palermo-Conde LA, Higashi K, Sonomoto K, Tan J, et al. Impact of Westernized Diet on Gut Microbiota in Children on Leyte Island. *Front Microbiol* [Internet]. 2017;8(February):1–18. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00197/full>
 24. Makki K, Deehan EC, Walter J, Bäckhed F. The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. *Cell Host Microbe.*

- 2018;23(6):705–15.
25. Riva A, Borgo F, Lassandro C, Verduci E, Morace G, Borghi E, et al. Pediatric obesity is associated with an altered gut microbiota and discordant shifts in Firmicutes populations. *Environ Microbiol*. 2017;19(1):95–105.
 26. López-Contreras BE, Morán-Ramos S, Villarruel-Vázquez R, Macías-Kauffer L, Villamil-Ramírez H, León-Mimila P, et al. Composition of gut microbiota in obese and normal-weight Mexican school-age children and its association with metabolic traits. *Pediatr Obes*. 2017;
 27. Turnbaugh PJ, Gordon JI. The core gut microbiome , energy balance and obesity. 2009;17:4153–8.
 28. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper L V., Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci [Internet]*. 2004;101(44):15718–23. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0407076101>
 29. Sonnenburg ED, Smits SA, Tikhonov M, Higginbottom SK, Wingreen NS, Sonnenburg JL. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature [Internet]*. 2016;529(7585):212–5. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature16504>
 30. Kovatcheva-Datchary P, Nilsson A, Akrami R, Lee YS, De Vadder F, Arora T, et al. Dietary Fiber-Induced Improvement in Glucose Metabolism Is Associated with Increased Abundance of *Prevotella*. *Cell Metab*. 2015;22(6):971–82.
 31. Christensen L, Roager HM, Astrup A, Hjorth MF. Microbial enterotypes in personalized nutrition and obesity management. *Am J Clin Nutr*. 2018;108(4):645–51.
 32. Zhong H, Penders J, Shi Z, Ren H, Cai K, Fang C, et al. Impact of early events and lifestyle on the gut microbiota and metabolic phenotypes in young school-age children. 2019;1–14.
 33. Costea PI, Hildebrand F, Manimozhayan A, Bäckhed F, Blaser MJ, Bushman FD, et al. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nat Microbiol [Internet]*. 2017;3(1):8–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-017-0072-8>
 34. ENSANUT. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018. *Resum Ejec*. 2018;1:113.
 35. Mhrshahi S, Baur LA. What exposures in early life are risk factors for childhood obesity? *J Paediatr Child Health [Internet]*. 2018;1–5. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jpc.14195>
 36. Pessin JE, Saltiel AR. On diabetes : insulin resistance Signaling pathways in insulin action : molecular targets of insulin resistance. 2000;106(2):165–9.
 37. Wilcox G. Insulin paper. 2005;26(May):19–39.

38. Kwiterovich PO. Recognition and management of dyslipidemia in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4200–9.
39. Rae-Ellen W, Kavey MD. Combined dyslipidemia in childhood. *J Clin Lipidol* [Internet]. 2015;9(5):S41–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2015.06.008>
40. Bibiloni MDM, Salas R, Novelo HI, Villarreal JZ, Sureda A, Tur JA. Serum lipid levels and dyslipidaemia prevalence among 2-10 year-old northern mexican children. *PLoS One* [Internet]. 2015;10(3):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0119877>
41. Martino F, Emilio P, Lamacchia F, Colantoni C, Zanoni C, Barillà F, et al. Mediterranean diet and physical activity impact on metabolic syndrome among children and adolescents from Southern Italy : Contribution from the Calabrian Sierras Community Study (CSCS). *Int J Cardiol* [Internet]. 2016;225:284–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.10.008>
42. O'Neill S, O'Driscoll L. Metabolic syndrome: A closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obes Rev.* 2015;16(1):1–12.
43. Ferranti SD De, Gauvreau K, Ludwig DS, Neufeld EJ, Newburger JW, Rifai N. Prevalence of the Metabolic Syndrome in American Adolescents. 2004;
44. Castillo EH, Borges G, Talavera JO, Orozco R, Vargas-Alemán C, Huitrón-Bravo G, et al. Body Mass Index and the Prevalence of Metabolic Syndrome among Children and Adolescents in Two Mexican Populations. *J Adolesc Heal.* 2007;40(6):521–6.
45. Hall KD, Guo J. Obesity Energetics: Body Weight Regulation and the Effects of Diet Composition. *Gastroenterology* [Internet]. 2017;152(7):1718-1727.e3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2017.01.052>
46. Popkin B, Reardon T. Obesity and the food system transformation in Latin America. *Physiol Behav.* 2018;19(8):1028–64.
47. Berenice E, Pineda G, Gómez-humarán IM, Levy TS. Informe final de resultados. 2016;2016(Ensanut).
48. Agnoli C, Pounis G, Krogh V. Chapter 4 - Dietary Pattern Analysis [Internet]. *Analysis in Nutrition Research.* Elsevier Inc.; 2019. 75–101 p. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012814556200004X>
49. Schulze MB, Martínez-González MA, Fung TT, Lichtenstein AH, Forouhi NG. Food based dietary patterns and chronic disease prevention. *BMJ.* 2018;361:1–6.
50. Aranceta J. Nutrition education in schools : experiences and challenges. 2003;82–5.
51. Jang HB, Choi M-K, Kang JH, Park SI, Lee H-J. Association of dietary patterns with the fecal microbiota in Korean adolescents. *BMC Nutr* [Internet].

- 2017;3(1):20. Available from:
<http://bmcnutr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40795-016-0125-z>
52. Rodríguez-ramírez S, Mundo-rosas V, García-guerra A, Shamah-levy T. Dietary patterns are associated with overweight and obesity in Mexican school-age children. 2011;61(4):270–8.
 53. Zamora Gasga VM, Montalvo González E, Loarca Piña GF, Chacón López AM, Tovar J, Sáyago Ayerdi SG. TT - Dietary patterns, nutritional profile, and body mass index in Mexican schoolchildren: A cross sectional study. Arch Latinoam Nutr [Internet]. 2017;67(1):6–14. Available from: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222017000100002&lang=es%0Ahttp://www.scielo.org.ve/pdf/alan/v67n1/art02.pdf
 54. Liu D, Zhao LY, Yu DM, Ju LH, Zhang J, Wang JZ, et al. Dietary patterns and association with obesity of children aged 6–17 years in medium and small cities in China: Findings from the CNHS 2010–2012. Nutrients. 2019;11(1):1–12.
 55. Ambrosini GL, Huang RC, Mori TA, Hands BP, O’Sullivan TA, de Klerk NH, et al. Dietary patterns and markers for the metabolic syndrome in Australian adolescents. Nutr Metab Cardiovasc Dis [Internet]. 2010;20(4):274–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2009.03.024>
 56. M.C. AH, F.B. S, C.B. C. Dietary Patterns and Cardiovascular Disease Risk in People with Type 2 Diabetes. Curr Obes Rep [Internet]. 2017;6(4):405–13. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L619564321%0Ahttp://dx.doi.org/10.1007/s13679-017-0284-5>
 57. Rodríguez-Monforte M, Sánchez E, Barrio F, Costa B, Flores-Mateo G. Metabolic syndrome and dietary patterns: a systematic review and meta-analysis of observational studies. Eur J Nutr. 2017;56(3):925–47.
 58. Khayatzadeh SS, Bagherniya M, Fazeli M, Khorasanchi Z, Bidokhti MS, Ahmadinejad M, et al. A Western dietary pattern is associated with elevated level of high sensitive C-reactive protein among adolescent girls. Eur J Clin Invest. 2018;48(4):0–1.
 59. Czekajło A, Różańska D, Zatońska K, Szuba A, Regulska-Illow B. Association between dietary patterns and cardiovascular risk factors in a selected population of lower silesia (Pure study Poland). Ann Agric Environ Med. 2018;25(4):635–41.
 60. Silveira BKS, Oliveira TMS, Andrade PA, Hermsdorff HHM, Rosa C de OB, Franceschini S do CC. Dietary Pattern and Macronutrients Profile on the Variation of Inflammatory Biomarkers: Scientific Update. Cardiol Res Pract. 2018;2018:4762575.

61. Neuhouser ML. The importance of healthy dietary patterns in chronic disease prevention. *Nutr Res.* 2018;4–7.
62. Conclusions M, Millen BE, Abrams S, Adams-campbell L, Anderson CAM, Brenna JT, et al. The 2015 Dietary Guidelines Advisory Committee Scientific Report : Development. 2016;
63. Jacques PF, Tucker KL. Are dietary patterns useful for understanding the role of diet in chronic disease ? 1 , 2. 2001;1–2.
64. Tosti V, Bertozzi B, Fontana L. Health Benefits of the Mediterranean Diet: Metabolic and Molecular Mechanisms. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 2018;73(3):318–26.
65. Bach-Faig A, Berry EM, Lairon D, Reguant J, Trichopoulou A, Dernini S, et al. Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutr.* 2011;14(12A):2274–84.
66. Arnold JW, Roach J, Azcarate-peril MA. Emerging Technologies for Gut Microbiome Research. *Trends Microbiol [Internet].* 2016;24(11):887–901. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2016.06.008>
67. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J [Internet].* 2017;474(11):1823–36. Available from: <http://biochemj.org/lookup/doi/10.1042/BCJ20160510>
68. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006;444(7122):1022–3.
69. 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(7464):541–6.
70. Healey G, Murphy R, Butts C, Brough L, Whelan K, Coad J. Habitual dietary fibre intake influences gut microbiota response to an inulin-type fructan prebiotic: A randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over, human intervention study. *Br J Nutr.* 2018;119(2):176–89.
71. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Paslier DL, Yamada T, et al., Shu Y-Z, Arcuri M, Kozlowski M, Wang R, Lam KS, Chang L-P, et al. Enterotypes of the human gut microbiome *Manimozhiyan. Eur PMC Funders Gr.* 2011;47(11):174–80.
72. Sonnenburg ED, Sonnenburg JL. The ancestral and industrialized gut microbiota and implications for human health. *Nat Rev Microbiol [Internet].* 2019;17(6):383–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-019-0191-8>
73. Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science (80-) [Internet].* 2016;352(6285):560–4. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.aad3503>

74. Zhernakova A, Kurilshikov A, Bonder MJ, Tigchelaar EF, Schirmer M, Vatanen T, et al. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science* (80-) [Internet]. 2016;352(6285):565–9. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.aad3369>
75. Sonnenburg JL, Bäckhed F. Diet–microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature* [Internet]. 2016;535(7610):56–64. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature18846>
76. Sonnenburg ED, Sonnenburg JL. Starving our microbial self: The deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates. *Cell Metab.* 2014;20(5):779–86.
77. Dominguez Bello MG, Knight R, Gilbert JA, Blaser MJ. Ensure the Health of Future Generations. *Science* (80-). 2018;362(6410):33–5.
78. Martínez I, Stegen JC, Maldonado-Gómez MX, Eren MA, Siba PM, Greenhill AR, et al. The Gut Microbiota of Rural Papua New Guineans: Composition, Diversity Patterns, and Ecological Processes. *Cell Rep.* 2015;11(4):527–38.
79. De Filippo C, Di Paola M, Ramazzotti M, Albanese D, Pieraccini G, Banci E, et al. Diet, environments, and gut microbiota. A preliminary investigation in children living in rural and Urban Burkina Faso and Italy. *Front Microbiol.* 2017;8(OCT):1–14.
80. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y, Keilbaugh SA, et al. with Gut Microbial Enterotypes. *Science* (80-). 2011;334(October):105–9.
81. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, Larsen TM, Bahl MI. Microbial enterotypes, inferred by the *Prevotella*-to-*Bacteroides* ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80(3):1142–9.
82. Sun L, Ma L, Ma Y, Zhang F, Zhao C, Nie Y. Insights into the role of gut microbiota in obesity: pathogenesis , mechanisms , and therapeutic perspectives. *Protein Cell* [Internet]. 2018;9(5):397–403. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13238-018-0546-3>
83. Sze MA, Schloss PD. (UK Biobank) Genotyping and quality control of UK Biobank, a large---scale, extensively phenotyped prospective resource. *MBio.* 2016;7(4):1–10.
84. Moran-Ramos S, López-Contreras BE, Canizales-Quinteros S. Gut Microbiota in Obesity and Metabolic Abnormalities: A Matter of Composition or Functionality? *Arch Med Res.* 2017;48(8):735–53.
85. Nirmalkar K, Murugesan S, Pizano-Zárate ML, Villalobos-Flores LE, García-González C, Morales-Hernández RM, et al. Gut microbiota and endothelial dysfunction markers in obese Mexican children and adolescents. *Nutrients.* 2018;10(12).

86. Y. W, H. L. The global childhood obesity epidemic and the association between socio-economic status and childhood obesity. *Int Rev Psychiatry* [Internet]. 2012;24(3):176–88. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed10&N=EWS=N&AN=2012366022>
87. Canfora EE, Jocken JW, Blaak EE. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2015;11(10):577–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2015.128>
88. Pedersen HK, Gudmundsdottir V, Nielsen HB, Hyotylainen T, Nielsen T, Jensen BAH, et al. Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature* [Internet]. 2016;535(7612):376–81. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature18646>
89. McNabney SM, Henagan TM. Short chain fatty acids in the colon and peripheral tissues: A focus on butyrate, colon cancer, obesity and insulin resistance. *Nutrients*. 2017;9(12):1–28.
90. Li Z, Yi CX, Katiraei S, Kooijman S, Zhou E, Chung CK, et al. Butyrate reduces appetite and activates brown adipose tissue via the gut-brain neural circuit. *Gut*. 2018;67(7):1269–79.
91. Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ, Lefevre M, et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes*. 2009;58(7):1509–17.
92. Org E, Blum Y, Kasela S, Mehrabian M, Kuusisto J, Kangas AJ, et al. Relationships between gut microbiota, plasma metabolites, and metabolic syndrome traits in the METSIM cohort. *Genome Biol*. 2017;18(1):1–14.
93. Rath S, Heidrich B, Pieper DH, Vital M. Uncovering the trimethylamine-producing bacteria of the human gut microbiota. *Microbiome*. 2017;5(1):1–14.
94. Cani PD, de Vos WM. Next-generation beneficial microbes: The case of *Akkermansia muciniphila*. *Front Microbiol*. 2017;8(SEP):1–8.
95. Zhang H, DiBaise J, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, Yu Y, et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(7):2365–70.
96. Clavel T, Desmarchelier C, Haller D, Gérard P, Rohn S, Lepage P, et al. Intestinal microbiota in metabolic diseases: From bacterial community structure and functions to species of pathophysiological relevance. *Gut Microbes*. 2014;5(4):544–51.
97. Del Chierico F, Abbatini F, Russo A, Quagliariello A, Reddel S, Capoccia D, et al. Gut microbiota markers in obese adolescent and adult patients: Age-dependent differential patterns. *Front Microbiol*. 2018;9(JUN):1–12.

98. Chávez-Carbajal A, Nirmalkar K, Pérez-Lizaur A, Hernández-Quiroz F, Ramírez-del-Alto S, García-Mena J, et al. Gut Microbiota and Predicted Metabolic Pathways in a Sample of Mexican Women Affected by Obesity and Obesity Plus Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2019;20(2):438.
99. Zhao S, Liu W, Wang J, Shi J, Sun Y, Wang W, et al. *Akkermansia muciniphila* improves metabolic profiles by reducing inflammation in chow diet-fed mice. *J Mol Endocrinol.* 2017;58(1):1–14.
100. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Original Article. *Diabetes* [Internet]. 2007;56(July):1761–72. Available from: <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/56/6/1551.long>
101. Koren O, Spor A, Felin J, Fåk F, Stombaugh J, Tremaroli V, et al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(SUPPL. 1):4592–8.
102. Hu HJ, Park SG, Jang HB, Choi MG, Park KH, Kang JH, et al. Obesity alters the microbial community profile in Korean Adolescents. *PLoS One* [Internet]. 2015;10(7):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0134333>
103. Le Roy T, Lécuyer E, Chassaing B, Rhimi M, Lhomme M, Boudebbouze S, et al. The intestinal microbiota regulates host cholesterol homeostasis. *BMC Biol* [Internet]. 2019;17(1):94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31775890><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC6882370>
104. Cani PD, Osto M, Geurts L, Everard A. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes.* 2012;3(4).
105. Caricilli AM, Saad MJA. The role of gut microbiota on insulin resistance. *Nutrients.* 2013;5(3):829–51.
106. Depommier C, Everard A, Druart C, Plovier H, Van Hul M, Vieira-Silva S, et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat Med* [Internet]. 2019;25(7):1096–103. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-019-0495-2>
107. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2013;110(22):9066–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23671105><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3670398>
108. Nakayama J, Watanabe K, Jiang J, Matsuda K, Chao SH, Haryono P, et al. Diversity in gut bacterial community of school-age children in Asia. *Sci Rep.*

- 2015;5:1–11.
109. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y, Keilbaugh SA, et al. with Gut Microbial Enterotypes. 2011;(October).
 110. Chelakkot C, Choi Y, Kim DK, Park HT, Ghim J, Kwon Y, et al. Akkermansia muciniphila-derived extracellular vesicles influence gut permeability through the regulation of tight junctions. *Exp Mol Med* [Internet]. 2018;50(2):e450-11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/emm.2017.282>
 111. Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, Kamada N, Hickey CA, Wolter M, et al. A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell*. 2016;167(5):1339-1353.e21.
 112. Hjorth MF, Roager HM, Larsen TM, Poulsen SK, Licht TR, Bahl MI, et al. Pre-treatment microbial Prevotella -to- Bacteroides ratio , determines body fat loss success during a 6-month randomized controlled diet intervention. *Nat Publ Gr* [Internet]. 2017;42(3):580–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2017.220>
 113. Roager HM, Licht TR, Poulsen SK, Larsen TM, Bahl MI. Microbial enterotypes, inferred by the Prevotella-to-Bacteroides ratio, remained stable during a 6-month randomized controlled diet intervention with the new nordic diet. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(3):1142–9.
 114. Hernández-Cordero S, Cuevas-Nasu L, Morán-Ruán MC, Méndez-Gómez Humarán I, Ávila-Arcos MA, Rivera-Dommarco JA. Overweight and obesity in Mexican children and adolescents during the last 25 years. *Nutr Diabetes* [Internet]. 2017;7(3):e247-9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nutd.2016.52>
 115. Jelalian E, Whitney Evans E. Behavioral intervention in the treatment of obesity in children and adolescents: Implications for Mexico. *Nutr Rev*. 2017;75:79–84.
 116. Díaz RG, Esparza-Romero J, Moya-Camarena SY, Robles-Sardín AE, Valencia ME. Lifestyle Intervention in Primary Care Settings Improves Obesity Parameters among Mexican Youth. *J Am Diet Assoc* [Internet]. 2010;110(2):285–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jada.2009.10.042>
 117. Hernández-avila M, Romieu I, Parra S. Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire to assess dietary intake of women living in Mexico City *. 1998;39(40):133–40.
 118. Naska A, Lagiou A, Lagiou P. Dietary assessment methods in epidemiological research: current state of the art and future prospects. *F1000Research* [Internet]. 2017;6(0):926. Available from: <https://f1000research.com/articles/6-926/v1>

119. Hu FB, Rimm E, Smith-warner SA, Feskanich D, Stampfer MJ, Ascherio A, et al. Reproducibility and validity of dietary patterns assessed with a. 1999;
120. Hernández-Avila M. et al. SNUT Sistema de Evaluación de Hábitos Nutricionales y Consumo de Nutrientes. Instituto Nacional de Salud Pública: Cuernavaca, México , 2003. Cuernavaca, México [Internet]. 2003;2003. Available from: https://scholar.google.com.br/scholar?cluster=9145878321653220099&hl=es&as_sdt=2005&scioldt=0,5
121. Craig LCA, Mcneill G, Macdiarmid JI, Masson LF, Holmes BA. Short Communication Dietary patterns of school-age children in Scotland: association with socio-economic indicators , physical activity and obesity. 2017;(2010):319–34.
122. Flores M, Macias N, Rivera M, Lozada A, Rivera-dommarco J, Tucker KL. Dietary Patterns in Mexican Adults Are Associated with Risk of Being Overweight. 2010;1869–73.
123. Gidding SS, Dennison BA, Birch LL, Daniels SR, Gilman MW, Lichtenstein AH, et al. Dietary recommendations for children and adolescents: A guide for practitioners consensus statement from the American Heart Association. Circulation. 2005;112(13):2061–75.
124. Newby PK, Tucker KL, Weismayer C, Agneta A. Long-Term Stability of Food Patterns Identified by Use of Factor Analysis among Swedish Women. 2006;(December 2005):626–33. Available from: <https://academic.oup.com/jn/article/136/3/626/4743753>
125. Moghames P, Hammami N, Hwalla N, Yazbeck N, Shoaib H, Nasreddine L, et al. Validity and reliability of a food frequency questionnaire to estimate dietary intake among Lebanese children. Nutr J [Internet]. 2016;1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12937-015-0121-1>
126. Lohman T.G., Roche A.F., & Martorell R. Anthropometry Protocol. 2003;pp.1-12.
127. Duren DL, Sherwood RJ, Czerwinski SA, Lee M, Choh AC, Siervogel RM, et al. Body composition methods: Comparisons and interpretation. J Diabetes Sci Technol. 2008;2(6):1139–46.
128. Falkner B, Daniels SR. Diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. Natl Hear Lung Blood Inst. 2004;44(4):387–8.
129. Flynn JT, Kaelber DC, Baker-Smith CM, Blowey D, Carroll AE, Daniels SR, et al. Clinical Practice Guideline for Screening and Management of High Blood Pressure in Children and Adolescents. Pediatrics [Internet]. 2017;140(3):e20171904. Available from: <http://pediatrics.aappublications.org/lookup/doi/10.1542/peds.2017-1904>

130. Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *PNAS* [Internet]. 2011;108:4516–22. Available from: https://www.pnas.org/content/108/Supplement_1/4516
131. Deangelis MM, Wang DG, Hawkins TL. Solid-phase reversible immobilization for the isolation of PCR products. 1995;23(22):4742–3.
132. Hawkins TL, Connor-morin TO, Roy A, Santillan C. DNA purification and isolation using a solid-phase. 1994;22(21):4543–4.
133. Roche FH. A amp xp. :1–9.
134. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, et al. correspondence QIIME allows analysis of high- throughput community sequencing data Intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing. *Nat Publ Gr* [Internet]. 2010;7(5):335–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth0510-335>
135. Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*. 2010;26(19):2460–1.
136. Gotelli NJ, Chao A. Measuring and Estimating Species Richness, Species Diversity, and Biotic Similarity from Sampling Data [Internet]. Vol. 5, *Encyclopedia of Biodiversity: Second Edition*. Elsevier Ltd.; 2013. 195–211 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384719-5.00424-X>
137. Chao A. Nonparametric estimation of the number of Classes in a population. *Scand J Stat*. 1984;11(4):265–70.
138. Kim BR, Shin J, Guevarra RB, Lee JH, Kim DW, Seol KH, et al. Deciphering diversity indices for a better understanding of microbial communities. *J Microbiol Biotechnol*. 2017;27(12):2089–93.
139. Lozupone C, Knight R. UniFrac : a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities UniFrac : a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(12):8228–35.
140. These S, Build T. The PAM Clustering Algorithm. *Compute*. :2–5.
141. Rousseeuw PJ. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. *J Comput Appl Math*. 1987;20(C):53–65.
142. Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, McDonald D, Knights D, Reyes JA, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat Biotechnol*. 2013;31(9):814–21.
143. Kipke M. Adolescent Development Biology [Internet]. 1999. 1–25 p. Available from: <http://www.nap.edu/catalog/9634.html%0AVisit>
144. De Oliveira E, Seidman E, Tian J, Hudgins C, Sacks M, Breslow L. Effects of shrimp consumption on plasma lipoproteins. *Clin Res*. 1996;712–7.
145. Poggio R, Elorriaga N, Gutierrez L, Irazola V, Rubinstein A, Danaei G. Associations between dietary patterns and serum lipids, apo and C-reactive

- protein in an adult population: evidence from a multi-city cohort in South America. *Br J Nutr*. 2017;117(04):548–55.
146. Kahleova H, Levin S, Barnard ND. Vegetarian Dietary Patterns and Cardiovascular Disease. *Prog Cardiovasc Dis* [Internet]. 2018; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0033062018300872>
 147. Barnard ND, Levin SM, Yokoyama Y. A Systematic Review and Meta-Analysis of Changes in Body Weight in Clinical Trials of Vegetarian Diets. *J Acad Nutr Diet* [Internet]. 2015;115(6):954–69. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jand.2014.11.016>
 148. Jaceldo-Siegl K, Estevez D, Fraser GE, Hayes-Bautista DE, Flores H, Jordan M, et al. Plant-Based Diets in Hispanic/Latino Adult Adventists in the United States and Their Association With Body Mass Index. *Am J Heal Promot*. 2019;
 149. Segovia-Siapco G, Sabaté J. Health and sustainability outcomes of vegetarian dietary patterns: a revisit of the EPIC-Oxford and the Adventist Health Study-2 cohorts. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. 2018; Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41430-018-0310-z>
 150. Carrera-Quintanar L, Roa RIL, Quintero-Fabián S, Sánchez-Sánchez MA, Vizmanos B, Ortuño-Sahagún D. Phytochemicals that influence gut microbiota as prophylactics and for the treatment of obesity and inflammatory diseases. *Mediators Inflamm*. 2018;2018.
 151. Bozzetto L, Costabile G, Della Pepa G, Ciciola P, Vetrani C, Vitale M, et al. Dietary fibre as a unifying remedy for the whole spectrum of obesity-associated cardiovascular risk. *Nutrients*. 2018;10(7).
 152. Chen JP, Chen GC, Wang XP, Qin L, Bai Y. Dietary fiber and metabolic syndrome: A meta-analysis and review of related mechanisms. *Nutrients*. 2018;10(1).
 153. Ríos-Covián D, Gueimonde M, Margolles A, Ruas-Madiedo P, Salazar N, de los Reyes-Gavilán CG. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. *Front Microbiol*. 2016;7(February):1–9.
 154. Montalcini T, De Bonis D, Ferro Y, Carè I, Mazza E, Accattato F, et al. High vegetable fats intake is associated with high resting energy expenditure in vegetarians. *Nutrients*. 2015;7(7):5933–47.
 155. Schürmann S, Kersting M, Alexy U. Vegetarian diets in children: a systematic review. *Eur J Nutr*. 2017;56(5):1797–817.
 156. Sadakane A, Tsutsumi A, Gotoh T, Ishikawa S, Ojima T, Kario K, et al. Dietary Patterns and Levels of Blood Pressure and Serum Lipids in a Japanese Population. *J Epidemiol*. 2008;18(2):58–67.
 157. Zarraga IGE, Schwarz ER. Impact of dietary patterns and interventions on cardiovascular health. *Circulation*. 2006;114(9):961–73.

158. Pletcher MJ, Vittinghoff E, Thanataveerat A, Bibbins-Domingo K, Moran AE. Young adult exposure to cardiovascular risk factors and risk of events later in life: The Framingham Offspring Study. *PLoS One* [Internet]. 2016;11(5):1–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0154288>
159. Koeth RA, Lam-Galvez BR, Kirsop J, Wang Z, Levison BS, Gu X, et al. L-Carnitine in omnivorous diets induces an atherogenic gut microbial pathway in humans. *J Clin Invest*. 2019;129(1):373–87.
160. Vital M, Howe AC, Tiedje JM. Revealing the bacterial butyrate synthesis pathways by analyzing (meta)genomic data. *MBio*. 2014;5(2):1–11.
161. Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, Kamada N, Hickey CA, Wolter M, et al. A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell*. 2016;167(5):1339–1353.e21.
162. Derrien M, Belzer C, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions. *Microb Pathog*. 2017;106:171–81.
163. Anhe FF, Roy D, Pilon G, Dudonné S, Matamoros S, Varin T V., 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):872–83.
164. Carmody RN, Gerber GK, Luevano JM, Gatti DM, Somes L, Svenson KL, et al. Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2015;17(1):72–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2014.11.010>
165. Olson CA, Vuong HE, Yano JM, Liang QY, Nusbaum DJ, Hsiao EY. The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet. *Cell*. 2018;173(7):1728–1741.e13.
166. Murugesan S, Ulloa-Martínez M, Martínez-Rojano H, Galván-Rodríguez FM, Miranda-Brito C, Romano MC, et al. Study of the diversity and short-chain fatty acids production by the bacterial community in overweight and obese Mexican children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2015;34(7):1337–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-015-2355-4>
167. Lippert K, Kedenko L, Antonielli L, Kedenko I, Gemeier C, Leitner M, et al. Gut microbiota dysbiosis associated with glucose metabolism disorders and the metabolic syndrome in older adults. *Benef Microbes*. 2017;8(4):545–56.
168. Amaretti A, Gozzoli C, Simone M, Raimondi S, Righini L, Pérez-Brocá V, et al. Profiling of Protein Degradation in Cultures of Human Gut Microbiota. *Front Microbiol* [Internet]. 2019;10(November):2614. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.02614>
169. de la Cuesta-Zuluaga J, Corrales-Agudelo V, Velásquez-Mejía EP, Carmona

- JA, Abad JM, Escobar JS. Gut microbiota is associated with obesity and cardiometabolic disease in a population in the midst of Westernization. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–14.
170. Meehan CJ, Beiko RG. A phylogenomic view of ecological specialization in the lachnospiraceae, a family of digestive tract-associated bacteria. *Genome Biol Evol*. 2014;6(3):703–13.
171. Liu H, Wang J, He T, Becker S, Zhang G, Li D, et al. Butyrate: A double-edged sword for health? *Adv Nutr*. 2018;9(1):21–9.
172. Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, Tito RY, Joossens M, Raes J. Stool consistency is strongly associated with gut microbiota richness and composition, enterotypes and bacterial growth rates. *Gut*. 2016;65(1):57–62.
173. Kong LC, Holmes BA, Cotillard A, Habi-Rachedi F, Brazeilles R, Gougis S, et al. Dietary patterns differently associate with inflammation and gut microbiota in overweight and obese subjects. *PLoS One*. 2014;9(10).
174. Berding K, Holscher HD, Arthur AE, Donovan SM. Fecal microbiome composition and stability in 4- to 8-year old children is associated with dietary patterns and nutrient intake. *J Nutr Biochem*. 2018;56:165–74.
175. Haro C, Garcia-Carpintero S, Alcalá-Díaz JF, Gomez-Delgado F, Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, et al. The gut microbial community in metabolic syndrome patients is modified by diet. *J Nutr Biochem*. 2016;27:27–31.
176. Dreher ML. Whole fruits and fruit fiber emerging health effects. *Nutrients*. 2018;10(12).
177. Slavin JU of M, Lloyd Beate P. Health Benefits of Fruits and Vegetables. www.yadtek.com › Heal › Diet Nutr. 2012;506–16.
178. Awika JM, Rose DJ, Simsek S. Complementary effects of cereal and pulse polyphenols and dietary fiber on chronic inflammation and gut health. *Food Funct* [Internet]. 2018;9(3):1389–409. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/c7fo02011b>
179. McRorie JW, McKeown NM. Understanding the Physics of Functional Fibers in the Gastrointestinal Tract: An Evidence-Based Approach to Resolving Enduring Misconceptions about Insoluble and Soluble Fiber. *J Acad Nutr Diet* [Internet]. 2017;117(2):251–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jand.2016.09.021>
180. Dai FJ, Chau CF. Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *J Food Drug Anal*. 2017;25(1):37–42.
181. Baxter BA, Oppel RC, Ryan EP. Navy beans impact the stool metabolome and metabolic pathways for colon health in cancer survivors. *Nutrients*. 2019;11(1).
182. Weickert MO, Pfeiffer AFH. Impact of dietary fiber consumption on insulin resistance and the prevention of type 2 diabetes. *J Nutr*. 2018;148(1):7–12.

183. Papandreou D, Noor ZT, Rashed M. The Role of Soluble, Insoluble Fibers and Their Bioactive Compounds in Cancer: A Mini Review. *Food Nutr Sci.* 2015;06(01):1–11.
184. Weickert MO, Pfeiffer AFH. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *J Nutr* [Internet]. 2008;138(3):439–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18287346>
185. Chen T, Long W, Zhang C, Liu S, Zhao L, Hamaker BR. Fiber-utilizing capacity varies in Prevotella- versus Bacteroides-dominated gut microbiota. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(1):1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-02995-4>
186. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature.* 2012;489(7415):220–30.
187. Hamaker BR, Tuncil YE. A perspective on the complexity of dietary fiber structures and their potential effect on the gut microbiota. *J Mol Biol* [Internet]. 2014;426(23):3838–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2014.07.028>
188. Ciudad-Mulero M, Fernández-Ruiz V, Matallana-González MC, Morales P. Dietary fiber sources and human benefits: The case study of cereal and pseudocereals [Internet]. 1st ed. *Advances in Food and Nutrition Research.* Elsevier Inc.; 2019. 1–52 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.002>
189. Baxter NT, Schmidt AW, Venkataraman A, Kim KS, Waldron C, Schmidt TM. Dynamics of Human Gut Microbiota and Short-Chain Fatty Acids in Response to Dietary Interventions with Three Fermentable Fibers. *MBio.* 2019;10(1):1–13.
190. Koren O, Knights D, Gonzalez A, Waldron L, Segata N, Knight R, et al. A Guide to Enterotypes across the Human Body: Meta-Analysis of Microbial Community Structures in Human Microbiome Datasets. *PLoS Comput Biol.* 2013;9(1).

12.Apéndice (contenido adicional del trabajo)

Anexo 1: Grupos de alimentos

Tabla 1: Clasificación de los alimentos por grupos de alimentos.

No.	Grupos de alimentos	Alimentos	ítems
1	Tortilla de maíz y alimentos a base de maíz	Tortilla de maíz, un elote, tamal, atole con y sin leche	5
2	Antojitos mexicanos	Un taco al pastor, un sope o quesadilla, un plato con pozole.	3
3	Pan blanco y tortillas de harina	Una tortilla de harina, una rebanada de tipo bimbo, un bolillo o telera.	3
4	Pan dulce y pastel	Una rebanada de pastel, una pieza de pan dulce.	2
5	Cereales con fibra	Pan integral, avena y cereal alto en fibra.	3
6	Cereal bajo en fibra	Un tazón de cereal de caja.	1
7	Papa o camote	Una papa o camote	1
8	Arroz y pasta	Un plato de arroz, un plato de sopa de pasta.	2
9	Leguminosas	Un plato de frijoles, media taza de chícharos, un plato de habas verdes, un plato de habas secas, un plato de lentejas o garbanzos.	5
10	Frutas	Plátano, naranja, manzana, sandía, piña, papaya, pera, mango, mandarina, fresas, durazno, uvas, tuna, ciruelas, mamey y zapote.	16
11	Verduras	Zanahoria, lechuga, espinaca, calabazas, nopales, flor de calabaza, coliflor, ejotes.	8
12	Jugo y agua dulce	Un vaso de jugo de toronja o naranja, un vaso de agua de sabor con azúcar.	2
13	Verdura preparada	Un jitomate en salsa o guisado, un plato de sopa o crema de verduras.	2
14	Pollo	Una pieza de pollo	1
15	Carnes rojas	Un plato de carne de res, un plato de carne de cerdo, un pedazo de chicharrón, una rebanada de tocino, hígado de res, un plato de carnitas, un plato de barbacoa.	7
16	Carne procesada o embutidos	Una rebanada de jamón, una salchicha, un trozo de chorizo.	3
17	Pescado	Una porción de atún, un plato de pescado fresco, un plato de sardinas.	3
18	Mariscos	Media taza de mariscos.	1
19	Lácteos	Una rebanada de queso fresco, una rebanada de queso Oaxaca, una rebanada de queso Manchego o Chihuahua, una cucharada de queso crema, una cucharadita de leche en polvo y un vaso de leche.	6
20	Yogurt	Una taza de yogurt o búlgaros.	1
21	Huevo	Un huevo	1
22	Grasas de origen vegetal	Aceite de maíz, soya, girasol, cártamo, oliva y medio aguacate.	6
23	Grasa saturada	Una cucharadita de margarina, una cucharadita de mantequilla, una cucharadita de crema, una cucharadita de mayonesa, una cucharadita de manteca vegetal y una cucharadita de manteca animal.	6
24	Dulces y postres	Una cucharadita de ate, miel, mermelada, cajeta; una tablilla de chocolate, un barquillo con helado de leche.	3
25	Refrescos	Un refresco de cola mediano, un refresco de sabor.	2
26	Salty snacks	Una bolsa de frituras	1
27	Chile o picante	Una cucharadita de salsa picante, chile en lata, un platillo con chile seco.	3

Anexo 2: Extracción de DNA de muestra fecales.

Primero se añadió 1.4 ml de Buffer ASL (buffer de lisis) y se colocó en el vórtex hasta que la muestra se homogenizó. Después, las muestras se colocaron en un termociclador a 95 °C por 5 minutos para facilitar la lisis de las bacterias. Se volvieron a homogenizar en el vórtex por 15 segundos y se centrifugó por un minuto a máxima velocidad (13000 rpm). Del sobrenadante se tomaron 1.2 ml y se añadieron tabletas InhibiTex, para la eliminación de contaminantes.

Luego de un vórtex y centrifugación se tomaron 1.5 ml de sobrenadante en un tubo nuevo y se volvió a centrifugar. Se añadieron 15 μ l de proteinasa K, para la digestión de proteínas, la remoción de contaminantes e inactivación de nucleasas (DNAasas y RNAasas). En tubo nuevo se agregó y homogenizó 200 μ l del sobrenadante del paso anterior y 200 μ l de Buffer AL, el cual es un buffer de lisis necesario para a la reacción con la proteinasa K. Después, los tubos fueron incubados por 30 min en un termociclador a 70 °C para la reacción con la proteinasa K. Se centrifugó y se añadieron 200 μ l de etanol (96 – 100 %) a temperatura ambiente, y se homogenizó nuevamente.

En columnas sobre tubos de recolección de 2 ml se añadió el contenido del paso anterior y se centrifugó por un minuto, desechando el líquido obtenido en los tubos de recolección. Luego, se añadieron 500 μ l de Buffer AW1 y luego 500 μ l de Buffer AW2, los cuales fueron necesarios para el mantenimiento del DNA en las columnas y la remisión de otros contaminantes. Por último, se colocó la columna en un tubo de 1.5 ml y se añadieron 200 μ l de Buffer AE directamente a la membrana de la columna, permitiendo que el DNA eluyera.

La cuantificación del DNA de las muestras se midió con el nanofotómetro Thermo Scientific NanoDrop 2000c colocando 2 μ l por muestra y usando como blanco el Buffer AE del estuche de extracción. Se verificó que la relación 260 / 280 se encontrara entre 1.8 - 2.0 y la relación 260 / 230 entre 1.5 - 2.0. Posteriormente se realizó una precipitación y resuspensión para lograr una concentración final 50 ng / μ l en aquellas muestras que no se hayan encontrado en este valor.

Anexo 3: Lista de oligonucleótidos para la primera PCR.

Tabla 2: Lista de oligos forward y reverse para la primera PCR.			
No.	Oligonucleótidos desalados	Secuencia de oligonucleótidos	Código de Barras/Barcode*
Oligos Forward (desalado)			
1	FWD_MB_MHIT	TCT TTC CCT ACA CGA CGC TCT TCC GAT CTG TGC CAG CMG CCG CGG TAA	GAT CT
Oligos Reverse (desalados)			
1	REV_BC1_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TCG TGA TGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	CGTGAT
2	REV_BC2_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TAC ATC GGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	ACATCG
3	REV_BC3_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TGC CTA AGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	GCCTAA
4	REV_BC4_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TTG GTC AGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	TGGTCA
5	REV_BC5_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TCA CTG TGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	CACTGT
6	REV_BC6_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TAT TGG CCG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	ATTGGC
7	REV_BC7_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TGA TCT GGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	GATCTG
8	REV_BC8_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TTT AAG TGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	TCAAGT
9	REV_BC9_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TCT GAT CCG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	CTGATC
10	REV_BC10_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TAA GCT AGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	AAGCTA
11	REV_BC11_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TGT AGC CCG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	GTAGCC
12	REV_BC12_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TTA CAA GGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	TACAAG
13	REV_BC13_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TTT GAC TGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	TTGACT
14	REV_BC14_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TGG AAC TGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	GGAACT
15	REV_BC15_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TTG ACA TGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	TGACAT
16	REV_BC16_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TGG ACG GGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	GGACGG
17	REV_BC18_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TGC GGA CCG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	GCGGAC
18	REV_BC19_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TTT TCA CCG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	TTTCAC
19	REV_BC20_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TGG CCA CCG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	GGCCAC
20	REV_BC21_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TCG AAA CCG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	CGAAAC
21	REV_BC22_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TCG TAC GGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	CGTACG
22	REV_BC23_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TCC ACT CCG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	CCACTC
23	REV_BC25_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TAT CAG TGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	ATCAGT
24	REV_BC27_MB_MHIT	GGA GTT CAG ACG TGT GCT CTT CCG ATC TAG GAA TGG ACT ACH VGG GTW TCT AAT	AGGAAT

Anexo 4: Lista de oligonucleótidos para segunda PCR.

Tabla 3: Lista de oligos forward y reverse para la segunda PCR.			
No.	Oligonucleótidos Desalados	Secuencia de oligonucleótidos	Código de Barras/Barcode*
Oligos Forward (HPLC)			
1	UNIV_ILLUMINA_F	AAT GAT ACG GCG ACC ACC GAG ATC TAC ACT CTT TCC CTA CAC GAC GCT CTT CCG ATC T	
Oligos Reverse (HPLC)			
1	REV_BC27_ILLUM	CAA GCA GAA GAC GGC ATA CGA GAT AAA GGA ATG TGA CTG GAG TTC AGA CGT GTG CTC TTC CGA TCT	AGGAAT
2	REV_BC25_ILLUM	CAA GCA GAA GAC GGC ATA CGA GAT AAA TCA GTG TGA CTG GAG TTC AGA CGT GTG CTC TTC CGA TCT	ATCAGT
3	REV_BC23_ILLUM	CAA GCA GAA GAC GGC ATA CGA GAT AAC CAC TCG TGA CTG GAG TTC AGA CGT GTG CTC TTC CGA TCT	CCACTC
4	REV_BC22_ILLUM	CAA GCA GAA GAC GGC ATA CGA GAT AAC GTA CGG TGA CTG GAG TTC AGA CGT GTG CTC TTC CGA TCT	CGTACG

Anexo 5: Comparaciones de datos antropométricos, bioquímicos y clínicos de los niños y niñas.

Tabla 4: Comparaciones de los parámetros antropométricos, bioquímicos, clínicos y de composición corporal entre niños y niñas.

	Niños			Niñas			p		
	n	Mediana	(RI)	n	Mediana	(RI)			
Datos antropométricos y composición corporal									
Peso (kg)	169	34.00	27.00	42.00	167	34.00	26.00	42.00	.759
Talla (percentil)	167	50.40	28.80	75.90	167	50.10	20.50	72.90	.256
Cintura (cm)	169	66.40	58.50	75.55	167	65.70	58.30	74.00	.705
Cadera (cm)	169	76.10	69.20	83.30	167	76.00	68.00	83.60	.835
IMC (percentil)	169	74.80	38.20	93.05	167	72.10	33.10	90.90	.333
MG %	168	29.13	20.57	37.33	165	31.63	23.97	38.44	.101
Datos clínicos									
PAS (percentil)	167	49.00	27.10	71.00	167	47.80	26.80	65.60	.649
PAD (percentil)	167	82.00	65.10	89.90	167	79.20	64.10	90.30	.871
Datos bioquímicos									
Creatinina (mg/dl)	169	0.46	0.40	0.54	167	0.45	0.39	0.51	.067
Ácido úrico (mg/dl)	169	4.50	3.85	5.30	167	4.50	3.90	5.20	.714
CT (mg/dl)	169	161.00	146.00	180.00	167	162.00	147.00	186.00	.700
TG (mg/dl)	169	75.00	51.00	100.50	167	85.00	60.00	121.00	.006
c-HDL (mg/dl)	169	49.00	42.00	56.00	167	47.00	39.00	55.00	.079
c-LDL (mg/dl)	167	97.00	83.00	111.00	164	95.00	82.00	115.00	.947
AST (UI/l)	169	30.00	27.00	35.50	167	29.00	25.00	33.00	.002
ALT (UI/l)	169	20.00	17.00	26.00	167	18.00	15.00	23.00	.013
GGT (UI/l)	169	13.00	12.00	16.00	167	13.00	11.00	15.00	.063
Glucosa (mg/dl)	169	89.00	85.00	93.00	167	86.00	83.00	91.00	.001
Insulina	169	4.90	3.20	7.00	167	6.00	4.20	9.30	3.427E-04
HOMA-IR	169	1.09	0.70	1.60	167	1.34	0.87	2.06	.002
Proteína C-Reactiva (mg/dl)	142	0.05	0.01	0.19	131	0.06	0.03	0.16	.666
LPS	85	0.721	0.507	1.327	75	0.703	0.449	1.411	0.884

n = 336

Prueba U de Mann-Whitney

Anexo 6: Comparaciones de datos antropométricos, bioquímicos y clínicos entre niños y adolescentes.

Tabla 5: Comparaciones de los parámetros antropométricos, bioquímicos, clínicos y de composición corporal entre niños y adolescentes.

	Menor o igual a 8 años			Mayor a 8 años			p		
	n	Mediana	(RI)	n	Mediana	(RI)			
Datos antropométricos y composición corporal									
Peso (kg)	75	24.00	21.00	30.00	261	37.00	30.00	45.00	1.928E-19
Talla (percentil)	74	42.75	19.53	66.08	260	52.20	26.40	75.48	.117
Cintura (cm)	75	56.70	54.00	63.50	261	68.20	60.60	76.50	2.581E-12
Cadera (cm)	75	66.50	62.00	73.00	261	78.10	71.80	85.60	1.385E-15
IMC (percentil)	75	68.80	33.70	92.80	261	74.80	38.00	91.65	.789
MG %	74	24.59	18.75	36.45	259	31.46	24.35	38.58	.003
Datos clínicos									
PAS (percentil)	75	46.00	29.60	63.80	259	49.00	26.40	69.30	.495
PAD (percentil)	75	79.60	69.40	88.40	259	80.80	62.30	91.00	.979
Datos bioquímicos									
Creatinina (mg/dl)	75	0.39	0.35	0.43	261	0.47	0.42	0.54	3.944E-15
Ácido úrico (mg/dl)	75	4.20	3.70	4.70	261	4.60	3.90	5.45	.001
CT (mg/dl)	75	163.00	152.00	186.00	261	161.00	146.00	181.00	.335
TG (mg/dl)	75	76.00	51.00	108.00	261	83.00	59.50	107.50	.135
c-HDL (mg/dl)	75	49.00	42.00	57.00	261	47.00	40.00	55.50	.224
c-LDL (mg/dl)	74	100.50	84.00	114.00	257	95.00	82.00	113.00	.221
AST (U/l)	75	31.00	28.00	35.00	261	29.00	25.00	34.00	.002
ALT (U/l)	75	19.00	17.00	24.00	261	19.00	16.00	25.00	.745
GGT (U/l)	75	13.00	11.00	15.00	261	13.00	12.00	16.00	.124
Glucosa (mg/dl)	75	4.20	2.70	6.60	261	5.80	3.85	8.80	4.329E-04
Insulina	75	88.00	83.00	92.00	261	88.00	84.00	92.00	.731
HOMA-IR	75	0.93	0.59	1.42	261	1.24	0.81	1.92	.001
Proteína C-Reactiva (mg/dl)	57	0.04	0.01	0.18	216	0.06	0.02	0.17	.411
LPS	41	0.67	0.42	1.10	119	0.74	0.51	1.41	.248

n = 336

Prueba U de Mann-Whitney

Anexo 7: Comparaciones de datos antropométricos, bioquímicos y clínicos entre niños y niñas, y por grupo de edad.

Tabla 6: Comparaciones de los parámetros antropométricos, bioquímicos, clínicos y de composición corporal en niños por grupos de edad.

	Niños (n = 169)				Menor o igual a 8 años				Mayor a 8 años				p
	n	Mediana	P25	P75	n	Mediana	P25	P75	n	Mediana	P25	P75	
Datos antropométricos y composición corporal													
Peso (kg)	40	24.50	21.25	32.00	129	37.00	30.00	45.00					1.904E-09
Talla (percentil)	39	44.30	20.10	76.70	128	53.95	30.00	73.20					.649
Cintura (cm)	40	57.10	54.43	65.30	129	68.60	60.55	77.25					1.636E-06
Cadera (cm)	40	67.65	62.25	75.90	129	78.10	71.00	85.50					2.216E-07
IMC (percentil)	40	72.60	35.93	94.90	129	75.50	39.80	92.65					.941
MG %	40	24.59	19.08	37.01	128	29.44	21.26	37.53					.205
Datos clínicos													
PAS (percentil)	40	51.85	33.48	74.53	127	47.20	25.10	69.90					.489
PAD (percentil)	40	84.75	71.40	89.23	127	80.80	61.50	89.90					.321
Datos bioquímicos													
Creatinina (mg/dl)	40	0.40	0.36	0.45	129	0.48	0.43	0.55					8.147E-09
Ácido úrico (mg/dl)	40	4.25	3.83	4.78	129	4.70	3.85	5.50					.055
CT (mg/dl)	40	164.00	153.25	181.75	129	159.00	145.00	179.50					.418
TG (mg/dl)	40	68.50	45.00	105.50	129	75.00	53.00	97.00					.313
c-HDL (mg/dl)	40	52.00	45.50	58.75	129	47.00	41.50	56.00					.039
c-LDL (mg/dl)	40	99.00	84.25	112.50	127	96.00	83.00	110.00					.443
AST (U/l)	40	30.00	28.00	36.75	129	30.00	26.50	35.00					.343
ALT (U/l)	40	18.00	15.00	25.75	129	21.00	17.00	26.50					.064
GGT (U/l)	40	13.00	11.25	16.00	129	13.00	12.00	16.00					.182
Glucosa (mg/dl)	40	91.00	84.25	94.00	129	89.00	85.00	92.00					.563
Insulina	40	4.30	2.73	6.28	129	5.10	3.30	7.40					.190
HOMA-IR	40	0.93	0.59	1.42	129	1.13	0.72	1.65					.245
Proteína C-Reactiva (mg/dl)	34	0.03	0.01	0.20	108	0.06	0.01	0.18					.683
LPS	24	0.74	0.48	1.27	61	0.71	0.51	1.37					.868

Prueba U de Mann-Whitney

Tabla 7: Comparaciones de los parámetros antropométricos, bioquímicos, clínicos y de composición corporal en niñas por grupos de edad.

	Niñas (n = 167)				Menor o igual a 8 años				Mayor a 8 años				p
	n	Mediana	P25	P75	n	Mediana	P25	P75	n	Mediana	P25	P75	
Datos antropométricos y composición corporal													
Peso (kg)	35	24.00	21.00	26.00	132	37.00	30.00	45.75					1.565E-11
Talla (percentil)	35	40.20	18.70	62.80	132	51.60	22.53	76.28					.089
Cintura (cm)	35	56.50	53.10	62.10	132	68.10	60.75	75.80					3.360E-07
Cadera (cm)	35	65.50	62.00	71.50	132	78.05	72.10	87.30					6.198E-10
IMC (percentil)	35	67.30	21.50	90.70	132	73.10	34.13	90.98					.665
MG %	34	24.56	17.51	35.96	131	33.29	24.76	38.74					.004
Datos clínicos													
PAS (percentil)	35	43.10	20.30	56.50	132	49.40	27.35	69.03					.083
PAD (percentil)	35	77.70	64.10	87.90	132	80.85	63.83	91.25					.313
Datos bioquímicos													
Creatinina (mg/dl)	35	0.38	0.33	0.43	132	0.47	0.41	0.52					5.030E-08
Ácido úrico (mg/dl)	35	4.10	3.60	4.70	132	4.60	3.90	5.30					.009
CT (mg/dl)	35	163.00	150.00	186.00	132	162.00	146.00	186.00					.581
TG (mg/dl)	35	83.00	55.00	116.00	132	90.00	61.00	123.75					.256
c-HDL (mg/dl)	35	46.00	39.00	55.00	132	47.00	40.00	55.00					.671
c-LDL (mg/dl)	34	103.00	83.50	119.25	130	94.00	80.75	115.00					.320
AST (U/l)	35	32.00	29.00	35.00	132	27.50	24.00	31.00					.001
ALT (U/l)	35	20.00	17.00	24.00	132	18.00	15.00	23.00					.130
GGT (U/l)	35	13.00	11.00	14.00	132	13.00	11.00	16.75					.355
Glucosa (mg/dl)	35	86.00	81.00	89.00	132	86.00	84.00	91.00					.329
Insulina	35	4.20	2.60	7.30	132	6.75	4.35	10.35					3.723E-04
HOMA-IR	35	0.93	0.56	1.39	132	1.46	0.94	2.18					3.044E-04
Proteína C-Reactiva (mg/dl)	23	0.05	0.01	0.17	108	0.06	0.03	0.15					.562
LPS	17	0.50	0.35	0.94	58	0.82	0.51	1.61					.058

Prueba U de Mann-Whitney

Anexo 8: Correlaciones entre fibra dietaria y los parámetros metabólicos.

Tabla 8: Correlaciones entre el consumo de fibra dietaria y los parámetros metabólicos.

	Fibra total		Fibra soluble		Fibra insoluble		Hemicelulosa		Celulosa		Lignina	
	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho	p
Datos antropométricos												
Cintura (cm) ^a	-0.027	0.702	0.009	0.896	-0.107	0.129	-0.004	0.954	-0.079	0.263	0.049	0.493
Cadera (cm) ^a	-0.096	0.174	-0.061	0.391	-0.107	0.128	-0.062	0.381	-0.113	0.111	0.020	0.780
pIMC ^b	-0.047	0.505	-0.031	0.663	-0.096	0.173	-0.041	0.558	-0.131	0.061	0.073	0.302
Datos de Composición Corporal												
% MG ^a	-0.031	0.666	-0.024	0.730	-0.099	0.161	-0.049	0.488	-0.104	0.141	0.049	0.493
% MLG ^a	0.034	0.637	0.023	0.741	0.106	0.134	0.058	0.416	0.103	0.147	-0.054	0.450
Datos Clínicos												
PAS (percentil) ^c	0.020	0.773	0.034	0.631	0.027	0.705	-0.034	0.635	0.102	0.147	0.022	0.760
PAD (percentil) ^c	-0.063	0.372	-0.013	0.849	-0.006	0.937	-0.052	0.464	0.042	0.550	-0.059	0.405
Datos de bioquímicos												
CT (mg/dl) ^d	-0.036	0.614	-0.052	0.465	-0.056	0.430	-0.032	0.648	0.066	0.353	0.045	0.529
TG (mg/dl) ^d	0.080	0.259	0.088	0.215	-0.101	0.153	-0.038	0.595	0.173	0.014	-0.032	0.656
HDL (mg/dl) ^d	-0.093	0.188	-0.176	0.013	0.085	0.231	0.031	0.665	0.116	0.102	0.053	0.452
LDL (mg/dl) ^d	-0.040	0.578	-0.021	0.769	-0.061	0.395	-0.018	0.805	-0.024	0.733	0.000	0.998
AST (U/l) ^f	0.102	0.149	0.072	0.308	0.036	0.608	0.004	0.950	-0.026	0.712	0.109	0.123
ALT (U/l) ^f	0.103	0.147	0.033	0.640	0.008	0.913	0.025	0.720	-0.057	0.419	0.161	0.023
GGT (U/l) ^d	-0.015	0.831	0.036	0.617	-0.048	0.498	0.013	0.856	-0.075	0.291	0.015	0.831
Glucosa (mg/dl) ^f	0.046	0.518	0.042	0.550	-0.109	0.124	-0.010	0.888	0.087	0.217	-0.026	0.709
Insulina ^d	-0.075	0.287	-0.109	0.124	-0.094	0.184	-0.030	0.673	0.001	0.986	-0.110	0.120
HOMA-IR ^d	-0.069	0.327	-0.103	0.144	-0.101	0.155	-0.031	0.661	0.008	0.915	-0.110	0.121
Proteína C-Reactiva (mg/dl) ^e	-0.053	0.456	-0.013	0.853	-0.103	0.149	-0.055	0.444	-0.025	0.730	-0.063	0.377
LPS ^e	-0.036	0.651	-0.092	0.252	-0.141	0.077	-0.118	0.142	0.054	0.504	-0.013	0.876

a ajuste por sexo y edad.

b sin ajuste.

c ajuste por pIMC.

d ajuste por edad, seo y pIMC.

Prueba Spearman, n = 204

Anexo 9: Abundancias relativas en los diferentes niveles taxonómicos.

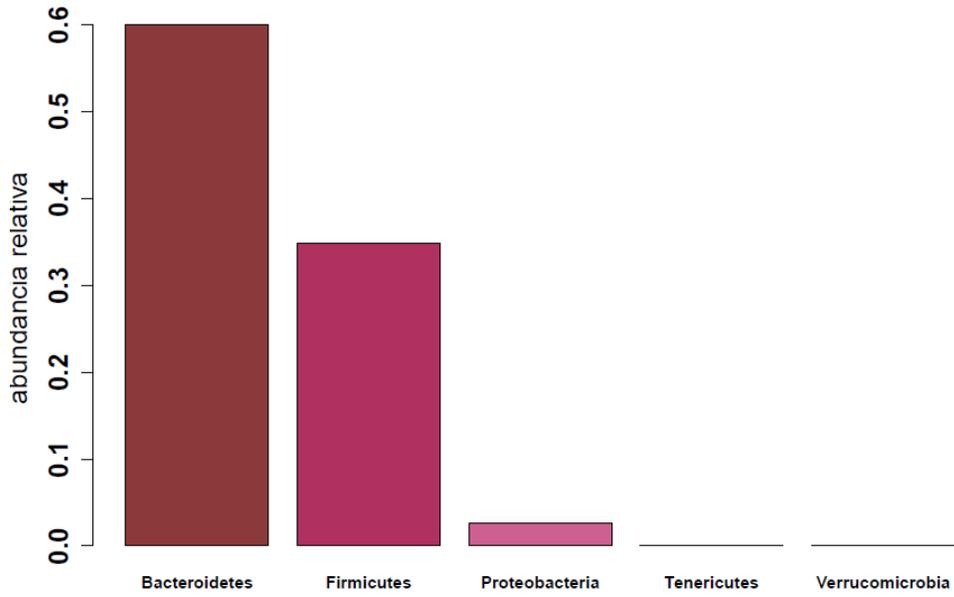


Figura 1: Gráfico de barras de la abundancia relativa de los *phyla* más abundantes.

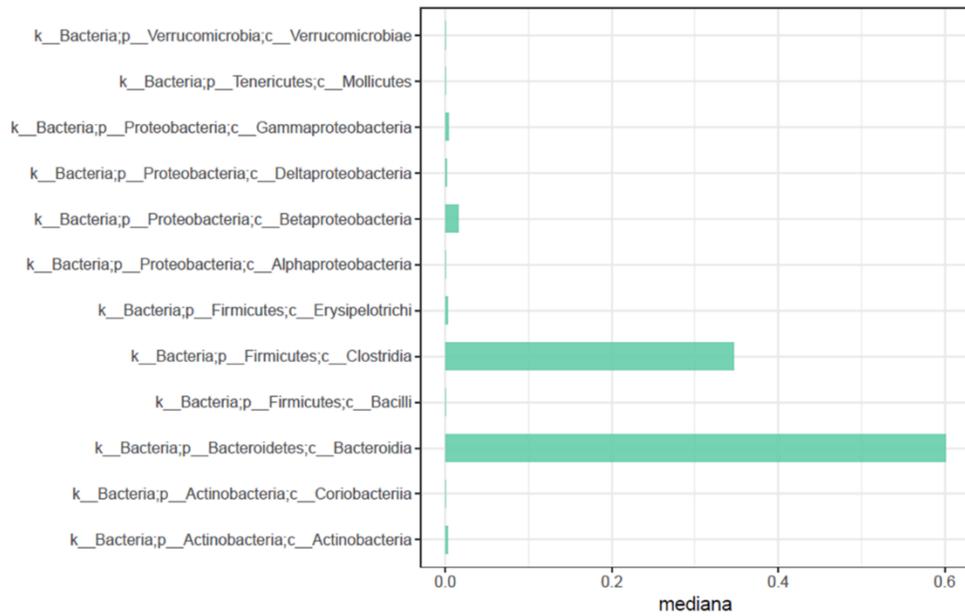


Figura 2: Gráfico de barras de la abundancia relativa a nivel de clase.

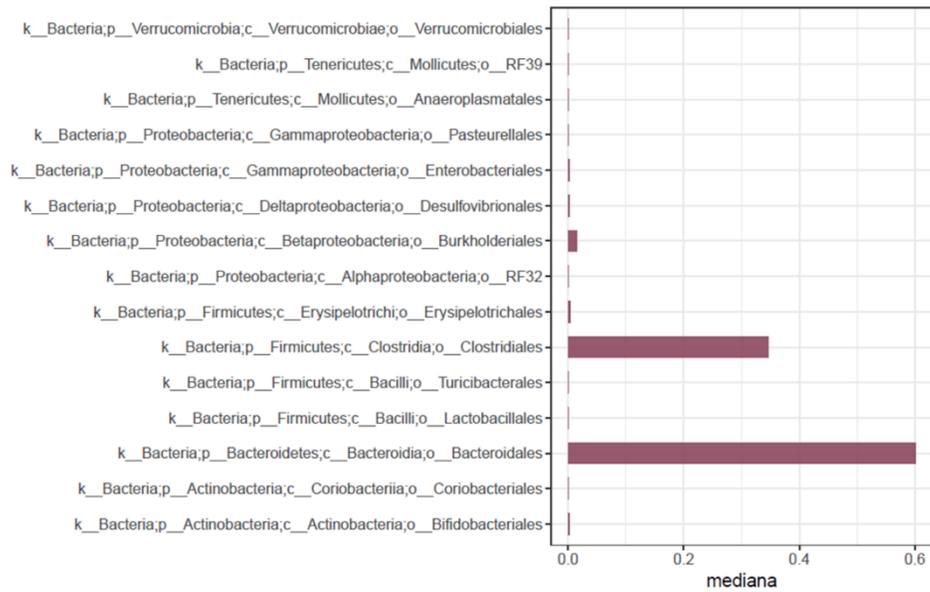


Figura 3: Gráfico de barras de la abundancia relativa a nivel de orden.

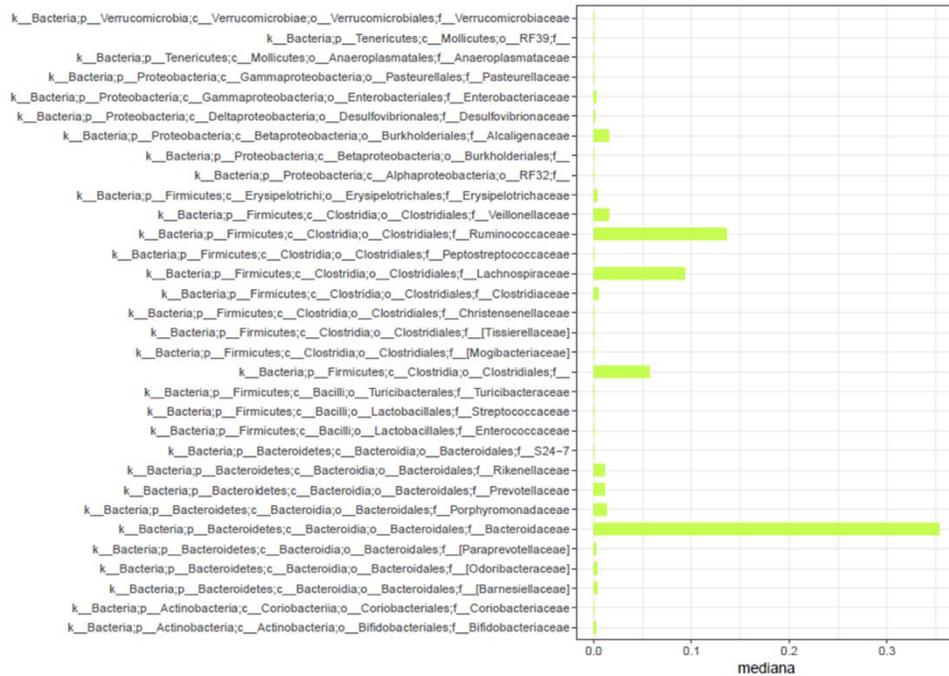


Figura 4: Gráfico de barras de la abundancia relativa a nivel de familia.



Figura 5: Gráfico de barras de la abundancia relativa a nivel de género.

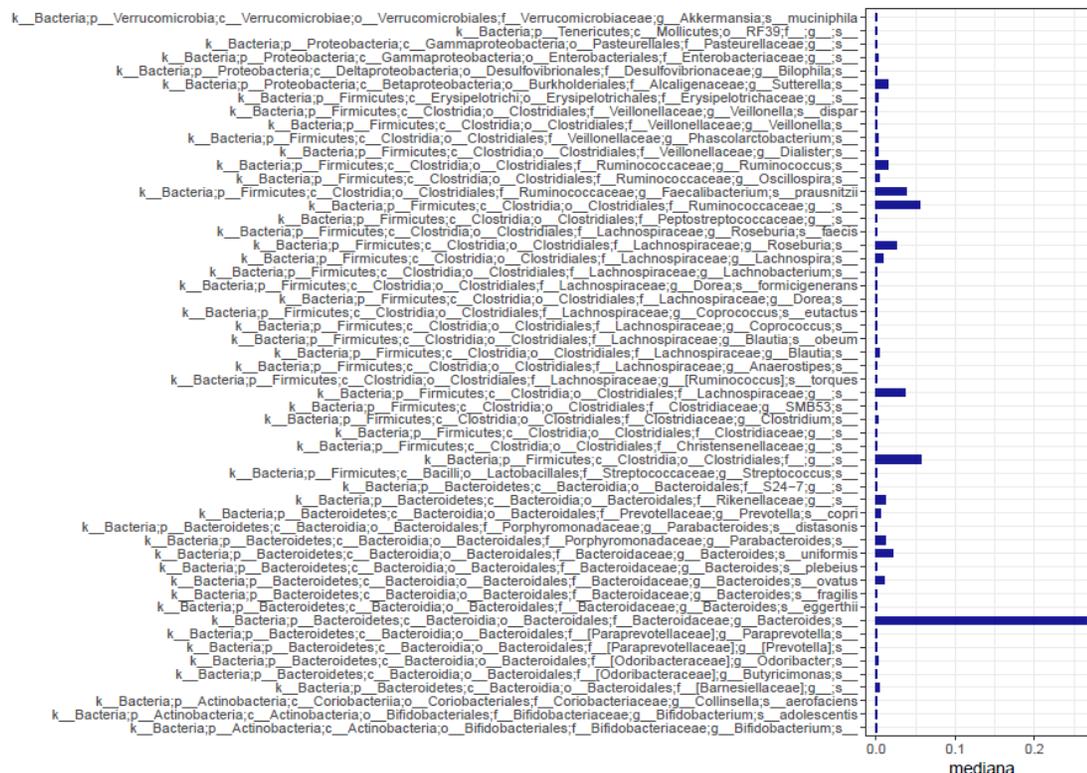


Figura 6: Gráfico de barras de la abundancia relativa a nivel de especie.

Anexo 10: Comparaciones de los nutrientes por enterotipo.

Tabla 9: Comparaciones de los nutrientes consumidos por enterotipo.

	Bacteroides (n = 136)			Prevotella (n = 68)			p
	Mediana	RI		Mediana	RI		
Energía y macronutrientes							
Kcal totales	1846.04	1440.87	2154.09	1809.95	1406.36	2328.50	.852
Grasas (Kcal)	715.64	539.71	849.67	682.83	506.86	942.53	.771
Proteínas (Kcal)	271.96	215.01	316.44	256.60	198.20	343.45	.907
Hidratos de Carbono (Kcal)	809.60	643.46	1006.62	872.62	667.12	1038.90	.456
Grasas (%)	38.19	35.33	43.17	38.68	33.77	41.98	.305
Proteínas (%)	14.76	13.55	16.11	14.75	13.68	15.87	.916
Hidratos de carbono (%)	46.56	41.71	50.13	46.51	42.96	51.22	.331
Fibra dietaria							
Fibra Total (g / 1000kcal / día)	10.42	8.81	11.64	10.22	8.47	11.96	.860
Fibra Soluble (g / 1000kcal / día)	3.01	2.50	3.44	2.90	2.37	3.59	.554
Fibra Insoluble (g / 1000kcal / día)	5.69	4.99	6.59	5.62	4.81	6.72	.596
Hemicelulosa (g / 1000kcal / día)	1.82	1.52	2.29	1.82	1.55	2.34	.796
Celulosa (g / 1000kcal / día)	2.66	2.00	4.05	2.89	1.85	4.45	.874
Lignina (g / 1000kcal / día)	0.46	0.38	0.55	0.45	0.35	0.60	.908
Carbohidratos							
Glucosa (g / 1000kcal / día)	6.96	5.61	9.11	7.78	5.85	9.17	.317
Fructosa (g / 1000kcal / día)	9.78	7.86	12.44	11.14	8.18	13.55	.139
Maltosa (g / 1000kcal / día)	0.59	0.48	0.75	0.62	0.50	0.79	.299
Lactosa (g / 1000kcal / día)	9.09	6.17	13.94	9.29	6.16	14.71	.840
Sacarosa (g / 1000kcal / día)	14.34	11.23	17.71	15.12	12.18	17.47	.713
Almidon (g / 1000kcal / día)	27.02	20.02	35.43	26.78	20.95	33.83	.698
Grasas							
Colesterol (g / 1000kcal / día)	130.35	111.02	154.68	126.72	105.33	141.30	.126
Grasa origen animal (g / 1000kcal / día)	26.06	22.04	29.67	25.69	20.68	29.29	.503
Grasa origen vegetal (g / 1000kcal / día)	16.35	13.93	20.15	17.13	14.26	19.14	.738
Grasa saturada (g / 1000kcal / día)	14.04	12.51	15.62	14.19	12.66	15.09	.952
Grasa monoinsaturada (g / 1000kcal / día)	16.20	14.47	17.82	15.97	13.76	18.03	.687
Grasa poliinsaturada (g / 1000kcal / día)	7.04	6.04	8.31	6.87	5.86	8.21	.497
Minerales							
Calcio (mg / 1000kcal / día)	414.39	314.32	514.72	414.04	321.06	522.53	.840
Hierro (mg / 1000kcal / día)	5.06	4.61	5.52	4.97	4.51	5.60	.469
Magnesio (mg / 1000kcal / día)	139.53	128.39	150.96	139.70	126.82	152.80	.944
Fósforo (mg / 1000kcal / día)	598.45	517.65	667.93	574.56	530.09	645.56	.684
Potasio (mg / 1000kcal / día)	1437.06	1279.32	1590.17	1425.51	1279.88	1606.41	.894
Sodio (mg / 1000kcal / día)	845.91	733.82	953.35	826.85	728.59	904.53	.244
Zinc (mg / 1000kcal / día)	7.08	5.55	9.87	6.88	5.48	10.28	.988
Cobre (mg / 1000kcal / día)	0.92	0.71	1.52	0.87	0.62	1.48	.476
Manganeso (mg / 1000kcal / día)	10.61	4.77	14.98	6.23	2.58	15.88	.230
Selenio (mcg / 1000kcal / día)	19.18	14.61	23.34	17.43	12.83	26.13	.673
Vitaminas							
Vitamina C (mg / 1000kcal / día)	71.89	48.29	93.93	71.69	46.82	92.57	.896
Vitamina B1 (mg / 1000kcal / día)	0.71	0.68	0.78	0.74	0.66	0.81	.559
Vitamina B2 (mg / 1000kcal / día)	0.86	0.75	0.99	0.83	0.73	0.95	.693
Vitamina B3 (mg / 1000kcal / día)	8.21	7.33	9.03	8.14	7.04	9.60	.856
Vitamina B5 (mg / 1000kcal / día)	3.12	2.32	4.99	3.71	2.47	6.17	.163
Vitamina B6 (mg / 1000kcal / día)	2.17	1.38	3.11	1.99	1.11	2.81	.435
Folatos (mcg / 1000kcal / día)	301.45	193.82	561.64	291.27	184.89	582.42	.890
Vitamina B12 (mcg / 1000kcal / día)	2.62	2.10	3.80	2.62	2.10	3.53	.513
Retinol (UI / 1000kcal / día)	924.67	691.60	1288.96	847.28	734.35	1143.72	.594
Carotenos (UI / 1000kcal / día)	3491.35	2105.68	4258.16	2993.76	1680.15	5072.52	.582
Vitamina D (UI / 1000kcal / día)	123.39	89.37	160.12	119.31	85.84	159.68	.606
Vitamina E (mcg / 1000kcal / día)	3.78	3.00	4.32	3.72	3.14	4.48	.590
Vitamina (mcg / 1000kcal / día)	39.11	27.82	50.36	34.72	27.32	49.68	.447
Prueba U de Mann-Whitney							

Anexo 11: Comparaciones del consumo de los patrones dietarios en diferentes complicaciones metabólicas en cada uno de los enterotipos.

Tabla 10: Comparaciones entre las clasificaciones del fenotipo metabólico en niños clasificados en el enterotipo *Bacteroides*.

	Bacteroides							
	Saludable		AOA		Transición		Vegetariano	
	Mediana	RI	Mediana	RI	Mediana	RI	Mediana	RI
Bajo peso-normopeso (n = 90)	0.008	(-0.653 - 0.719)	-0.060	(-0.627 - 0.696)	0.071	(-0.556 - 0.668)	0.211	(-0.513 - 1.005)
Sobrepeso-obesidad (n = 45)	-0.231	(-0.658 - 0.383)	0.269	(-0.492 - 0.740)	-0.173	(-0.624 - 0.478)	-0.120	(-0.693 - 0.540)
p	.393		.336		.332		.072	
Sin Síndrome Metabólico (n = 105)	-0.062	(-0.690 - 0.704)	-0.010	(-0.581 - 0.707)	-0.082	(-0.598 - 0.604)	-0.052	(-0.640 - 0.885)
Con Síndrome Metabólico (n = 31)	-0.231	(-0.551 - 0.467)	0.082	(-0.625 - 0.740)	-0.107	(-0.632 - 0.536)	-0.002	(-0.254 - 0.696)
p	.924		.961		.793		.777	
CT Aceptable (< 170 mg / dl) (n = 77)	-0.183	(-0.854 - 0.496)	-0.048	(-0.560 - 0.610)	-0.103	(-0.647 - 0.547)	0.254	(-0.448 - 1.007)
CT Alto (> 200 mg / dl) (n = 17)	0.338	(-0.339 - 0.939)	0.575	(-0.334 - 1.019)	-0.107	(-0.607 - 0.200)	0.252	(-0.269 - 0.540)
p	.022		.088		.476		.458	
c-HDL Aceptable (> 45 mg / dl) (n = 77)	-0.137	(-0.796 - 0.547)	0.033	(-0.617 - 0.766)	-0.128	(-0.614 - 0.640)	-0.028	(-0.640 - 0.872)
c-HDL (< 40 mg / dl) (n = 21)	-0.195	(-0.700 - 0.584)	-0.390	(-0.681 - 0.562)	-0.092	(-0.697 - 0.227)	-0.002	(-0.324 - 0.793)
p	.983		.375		.631		.637	
c-LDL Aceptable (< 110 mg / dl) (n = 92)	-0.189	(-0.863 - 0.459)	-0.072	(-0.579 - 0.611)	-0.093	(-0.671 - 0.603)	-0.040	(-0.740 - 0.919)
c-LDL Alto (> 130 mg / dl) (n = 15)	0.284	(-0.353 - 1.023)	0.507	(0.016 - 0.816)	-0.182	(-0.609 - 0.201)	-0.254	(-0.547 - 0.555)
p	.066		.108		.414		.634	
TG Aceptable (< 75 o 90 mg / dl) (n = 84)	-0.114	(-0.754 - 0.737)	0.058	(-0.515 - 0.673)	-0.093	(-0.673 - 0.535)	-0.064	(-0.710 - 0.847)
TG Alto (> 100 o 130 mg / dl) (n = 27)	-0.125	(-0.529 - 0.467)	-0.339	(-1.031 - 0.734)	-0.091	(-0.609 - 0.612)	0.320	(-0.120 - 0.723)
p	.711		.306		.496		.417	

Pruebas U de Mann Whitney

RI: Rango intercuartílico; CT: Colesterol total; c-HDL: Lipoproteína de alta densidad; c-LDL: Lipoproteína de baja densidad; TG: Triglicéridos

Tabla 11: Comparaciones entre las clasificaciones del fenotipo metabólico en niños clasificados en el enterotipo *Prevotella*.

	Prevotella							
	Saludable		AOA		Transición		Vegetariano	
	Mediana	RI	Mediana	RI	Mediana	RI	Mediana	RI
Bajo peso-normopeso (n = 39)	0.173	(-0.487 - 1.099)	-0.245	(-0.851 - 0.740)	-0.357	(-0.529 - 0.729)	0.135	(-0.335 - 0.862)
Sobrepeso-obesidad (n = 29)	-0.049	(-0.725 - 0.503)	0.030	(-0.786 - 0.771)	-0.458	(-1.118 - 0.111)	-0.684	(-0.967 - 0.049)
p	.208		.669		.066		.001	
Sin Síndrome Metabólico (n = 45)	0.210	(-0.537 - 1.034)	0.096	(-0.775 - 0.866)	-0.389	(-0.839 - 0.283)	0.057	(-0.697 - 0.838)
Con Síndrome Metabólico (n = 23)	-0.086	(-0.730 - 0.360)	-0.315	(-0.868 - 0.479)	-0.016	(-1.017 - 0.502)	-0.066	(-0.967 - 0.058)
p	.145		.341		.600		.048	
CT Aceptable (< 170 mg / dl) (n = 37)	0.033	(-0.690 - 0.827)	-0.245	(-0.872 - 0.830)	-0.358	(-0.739 - 0.504)	-0.109	(-0.894 - 0.588)
CT Alto (> 200 mg / dl) (n = 8)	0.048	(-0.759 - 0.914)	0.287	(-1.720 - 0.570)	-0.291	(-1.093 - 0.416)	-0.312	(-0.852 - 0.632)
p	.953		.929		.678		.905	
c-HDL Aceptable (> 45 mg / dl) (n = 39)	0.173	(-0.487 - 1.015)	-0.236	(-0.704 - 0.639)	-0.358	(-0.891 - 0.265)	0.121	(-0.573 - 0.853)
c-HDL (< 40 mg / dl) (n = 11)	-0.178	(-0.818 - 0.397)	-0.315	(-0.933 - 1.512)	-0.139	(-0.638 - 0.787)	-0.684	(-1.180 - 0.046)
p	.343		.788		.475		.003	
c-LDL Aceptable (< 110 mg / dl) (n = 44)	0.191	(-0.568 - 0.848)	-0.422	(-0.875 - 0.528)	-0.357	(-0.784 - 0.485)	-0.087	(-0.876 - 0.341)
c-LDL Alto (> 130 mg / dl) (n = 5)	-0.115	(-2.167 - 0.048)	0.479	(-1.121 - 1.001)	-0.458	(-1.189 - 0.257)	0.034	(-0.426 - 0.441)
p	.176		.428		.390		.716	
TG Aceptable (< 75 o 90 mg / dl) (n = 25)	-0.080	(-0.690 - 1.030)	-0.183	(-0.671 - 0.960)	-0.499	(-0.870 - 0.150)	-0.055	(-0.808 - 0.889)
TG Alto (> 100 o a 130 mg / dl) (n = 27)	-0.049	(-0.730 - 0.397)	-0.315	(-0.868 - 0.832)	-0.016	(-1.149 - 0.787)	-0.611	(-0.967 - 0.058)
p	.805		.504		.589		.136	

Pruebas U de Mann Whitney

RI: Rango intercuartílico; CT: Colesterol total; c-HDL: Lipoproteína de alta densidad; c-LDL: Lipoproteína de baja densidad; TG: Triglicéridos

Anexo 12: Vías funcionales del Metabolismo inferidas por PICRUST.

#	Vías del Metabolismo en nivel 2
1	Metabolism
2	Energy Metabolism
3	Lipid Metabolism
4	Carbohydrate Metabolism
5	Amino Acid Metabolism
6	Glycan Biosynthesis and Metabolism
7	Biosynthesis of Other Secondary Metabolites
8	Metabolism of Cofactors and Vitamins
9	Metabolism of Other Amino Acids
10	Metabolism of Terpenoids and Polyketides
11	Nucleotide Metabolism
12	Xenobiotics Biodegradation and Metabolism

Tabla 12: Vías funcionales del Metabolismo en el nivel 2.