



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Medicina

Unidad de Posgrado

**Relación de la bacteria Akkermansia muciniphila con  
el síndrome metabólico en trabajadores del Hospital  
Dr. Teodoro Maldonado Carbo - Ecuador. 2015**

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Doctor en Medicina

**AUTOR**

Bertha Leonor MAGGI GARCÉS

**ASESOR**

PhD. Aníbal Moisés OSCANO LEÓN

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Maggi B. Relación de la bacteria *Akkermansia muciniphila* con el síndrome metabólico en trabajadores del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo - Ecuador. 2015 [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina / Unidad de Posgrado; 2018.

---



# UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

FACULTAD DE MEDICINA

UNIDAD DE POST GRADO

SECCIÓN DOCTORAL



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR

En la ciudad de Lima, a los veintiocho días, del mes de noviembre del año dos mil dieciocho, siendo las 10.00 am., ante el Jurado de Sustentación, bajo la Presidencia del **Dr. JUAN PEDRO MATZUMURA KASANO**, y los Miembros del mismo, los Doctores:

<b>DR. JUAN PEDRO MATZUMURA KASANO</b>	<b>PRESIDENTE</b>
<b>Dr. OSCAR ANTONIO LIMAY RIOS</b>	<b>MIEMBRO</b>
<b>Dr. FERNANDO MARTÍN RAMÍREZ WONG</b>	<b>MIEMBRO</b>
<b>Dr. CÁRDENAS DÍAZ MAXIMILIANO</b>	<b>MIEMBRO</b>
<b>DR. ANÍBAL MOISÉS OSCANO A LEÓN</b>	<b>ASESOR</b>

El postulante al Grado de Doctor en Medicina, es Magister en Seguridad, Salud y ambiente, doña. **BERTHA LEONOR MAGGI GARCÉS**, procedió a hacer la exposición y defensa pública de su Tesis titulada: **"RELACIÓN DE LA BACTERIA AKKERMANSIA MUCINIPHILA CON EL SÍNDROME METABÓLICO EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL DR. TEODORO MALDONADO CARBO - ECUADOR. 2015"**, para optar el grado Académico de Doctor en **Medicina**.

Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, después de la cual obtuvo la siguiente calificación **"B" muy bueno 18 (Dieciocho)** a continuación el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad de Medicina, proponga que se le otorgue a la Magister: **Bertha Leonor Maggi Garcés**, el Grado Académico de Doctor en Medicina.

Se expide la presente Acta en tres originales y siendo a las 11:20 am horas se da por concluido el acto académico de sustentación.

  
-----  
**DR. OSCAR ANTONIO LIMAY RIOS**  
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN

  
-----  
**DR. FERNANDO MARTÍN RAMÍREZ WONG**  
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN

  
-----  
**DR. CÁRDENAS DÍAZ MAXIMILIANO**  
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN

  
-----  
**DR. ANÍBAL MOISÉS OSCANO A LEÓN**  
ASESOR DE LA TESIS DE SUSTENTACIÓN

  
-----  
**DR. JUAN PEDRO MATZUMURA KASANO**  
PRESIDENTE DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN

**“RELACIÓN DE LA BACTERIA *Akkermansia muciniphila* CON EL SÍNDROME METABÓLICO EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL DR. TEODORO MALDONADO CARBO - ECUADOR. 2015”**

**Aceptación o veredicto de la tesis por los miembros del jurado  
examinador para optar el grado Académico de Doctor en Medicina**

**Dra. OSCAR LIMAY RIOS**  
**MIEMBRO DEL JURADO DE**  
**SUSTENTACIÓN**

**Dr. FERNANDO MARTIN RAMÍREZ**  
**MIEMBRO DEL JURADO DE**  
**SUSTENTACIÓN**

**Dr. CÁRDENAS DÍAZ MAXIMILIANO**  
**MIEMBRO DEL JURADO DE**  
**SUSTENTACIÓN**

**Dr. ANÍBAL OSCANOVA LEÓN**  
**ASESOR DE TESIS DE**  
**SUSTENTACION**

**Dr. JUAN PEDRO MATZUMURA KASANO**  
**PRESIDENTE DEL JURADO**

## **DEDICATORIA**

**A mi amado esposo**

Juan Oswaldo Monserrate Cervantes

**A mis adorados hijos**

Juanito, Lorenita, y Verónica Monserrate Maggi

**A mi alegría de vivir**

Mi nietito Juan David Pacheco Monserrate

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Jehová creador de todo lo que existe, por la capacidad que me dio  
para la feliz culminación del doctorado.

A las autoridades del Universidad Nacional Mayor San Marcos por la  
oportunidad de estudiar en la Decana de América

Al Dr. Pedro Juan Matzumura Kasano, Vicerrector académico de Investigación  
y Post grado por su calidad humana y el desempeño eficiente como autoridad.

A mi asesor Dr. Aníbal Moisés Oscano León, por su apoyo y perseverancia

A mi co-asesora Nardy Diez, por su apoyo y paciencia.



## INDICE GENERAL

	Pág.
<b>CARÁTULA .....</b>	<b>i</b>
<b>PÁGINAS PRELIMINARES .....</b>	<b>ii</b>
<b>ÍNDICE GENERAL.....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA DE GRÁFICOS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABLAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xi</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>xii</b>
<b>I CAPÍTULO 1:</b>	
<b>DATOS GENERALES .....</b>	<b>1</b>
1.1 Título .....	1
1.2 Área de Investigación.....	1
1.3 Autor responsable de la Tesis.....	1
1.4 Asesor.....	1
1.5 Institución .....	1
1.6 Entidades o Personas con las que se coordinó la Tesis .....	1
1.7 Duración.....	1
1.8 Claves de la Tesis.....	1
<b>II CAPÍTULO 2:</b>	
<b>PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION.....</b>	<b>2</b>
2.1 Planteamiento del problema.....	2
2.1.1 Descripción del Problema .....	2
2.1.2 Antecedentes del Problema.....	5
2.1.3 Fundamentos.....	13
2.1.4. Métodos de estudio de la microbiota intestinal. ....	27
2.1.5. Microbiota intestinal e inflamación .....	29
2.1.6. Metabolitos bacterianos y Síndrome Metabólico.....	31
2.1.7 Akkermansia muciniphila .....	34
2.2. Formulación del problema.....	46

2.3. Hipótesis .....	46
2.4. Objetivos de la Investigación.....	46
2.4.1 Objetivo General .....	46
2.4.2 Objetivos Específicos.....	46
2.5 Justificación práctica e Importancia del estudio .....	47
<b>III CAPÍTULO 3:</b>	
<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>49</b>
3.1 Tipo y diseño de investigación .....	49
3.2 Universo de estudio .....	50
3.3 Criterios de Inclusión y exclusión .....	52
3.4 Variable de Estudio .....	52
3.5 Recolección de muestra y análisis de laboratorio .....	53
3.6 Procesamiento y análisis de los datos .....	55
3.7 Aspectos Éticos y consentimiento Informado.....	56
<b>IV CAPÍTULO 4:</b>	
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>57</b>
<b>4.1. RESULTADOS.....</b>	<b>57</b>
<b>4.2.DISCUSIÓN .....</b>	<b>70</b>
<b>V CAPÍTULO 5:</b>	
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>74</b>
<b>ANEXOS</b>	

**LISTA DE GRÁFICOS**

	Pág.
Gráfico 1 Prevalencia del síndrome metabólico	59
Gráfico 2 Criterios diagnósticos del síndrome metabólico	60
Gráfico 3 Número de criterios del síndrome metabólico	61
Gráfico 4 Prevalencia de la bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i>	64
Gráfico 5 Relación entre la bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i> y síndrome metabólico	69

## LISTA DE TABLAS

		<b>Pág.</b>
Tabla 1	Diversidad taxonómica de los microorganismos que conforman la microbiota autóctona.	16
Tabla 2	Mecanismos de acción de la Bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i> y sus efectos en la salud del hospedador	44
Tabla 3	Criterios clínicos para el diagnóstico de síndrome metabólico	51
Tabla 4	Características general de la muestra	58
Tabla 5	Prevalencia del síndrome metabólico premórbido	59
Tabla 6	Criterios diagnósticos del síndrome metabólico premórbido	60
Tabla 7	Número de criterios de síndrome metabólico premórbido	61
Tabla 8	Características epidemiológicas según síndrome metabólico premórbido	62
Tabla 9	Hábitos saludables asociados al síndrome metabólico premórbido	63
Tabla 10	Prevalencia de la bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i>	63
Tabla 11	Características epidemiológicas de la bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i>	65
Tabla 12	Hábitos saludables asociados a la bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i>	66
Tabla 13	Criterios diagnósticos del síndrome metabólico premórbido asociados a la bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i>	67
Tabla 14	Bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i> como factor protector del síndrome metabólico premórbido	68

## RESUMEN:

**Objetivo:** Establecer si existe una relación entre la presencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* con el síndrome metabólico en los trabajadores del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistan al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

**Método:** Fue un estudio observacional, analítico, de casos y controles, con un enfoque cuantitativo. La muestra estuvo conformada por 230 trabajadores entre 21 a 65 años, que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016. Se utilizó la prueba t de Student y Chi cuadrado para probar la asociación de variables.

**Resultados:** La edad promedio de los trabajadores fue de  $42.8 \pm 10$  años, la mayoría del sexo femenino (60.9%), con obesidad y sobrepeso (37% y 38.3%, respectivamente) casadas (50.9%), con estudios superiores (56.5%). El síndrome metabólico se relacionó significativamente con el sexo masculino ( $p < 0,001$ ), e IMC ( $p < 0,001$ ). La prevalencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* fue de 70,5%, la cual no se relacionó con las características epidemiológicas, ni hábitos saludables. No se encontró relación significativa ( $p = 0,348$ ) entre la presencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* con el síndrome metabólico premórbido.

**Conclusión:** La bacteria *Akkermansia muciniphila* no se relacionó con el síndrome metabólico en los trabajadores del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

**PALABRAS CLAVES:** *Akkermansia muciniphila*, síndrome metabólico, trabajadores de hospital.

**ABSTRACT:**

**Objective:** To establish if there is a relationship between the presence of the bacterium *Akkermansia muciniphila* with the metabolic syndrome in the workers of the Dr. Teodoro Maldonado Carbo to attend the annual health control between February 15 to June 10, 2016.

**Method:** It was an observational, analytical, case-control study, with a quantitative approach. The sample consisted of 230 workers between 21 and 65 years old, who attended the annual health check-up between February 15 and June 10, 2016. Student's t-test and Chi-square were used to test the association of variables.

**Results:** The average age of the workers was  $42.8 \pm 10$  years, the majority of women (60.9%), with obesity and overweight (37% and 38.3%, respectively) married (50.9%), with higher education (56.5%). Metabolic syndrome was significantly related to male sex ( $p < 0.001$ ), and BMI ( $p < 0.001$ ). The prevalence of the bacterium *Akkermansia muciniphila* was 70.5%, which was not related to epidemiological characteristics or healthy habits. No significant relationship was found ( $p = 0.348$ ) between the presence of the bacterium *Akkermansia muciniphila* and the premorbid metabolic syndrome.

**Conclusion:** The bacterium *Akkermansia muciniphila* was not related to the metabolic syndrome in the workers of the "Dr. Teodoro Maldonado Carbo" who attended the annual health check between February 15 to June 10, 2016.

**KEY WORDS:** *Akkermansia muciniphila*, metabolic syndrome, hospital workers.

## RESUMO:

**Objetivo:** Estabelecer se existe uma relação entre a presença da bactéria *Akkermansia muciniphila* com a síndrome metabólica nos trabalhadores do "Dr. Teodoro Maldonado Carbo" para participar do controle anual de saúde entre 15 de fevereiro e 10 de junho de 2016.

**Método:** Estudo observacional, analítico, caso-controle, com abordagem quantitativa. A amostra foi composta por 230 trabalhadores de 21 a 65 anos, que participaram do cheque anual de saúde a partir de 15 fevereiro - 10 junho 2016. do t-teste e quadrado Chi Student foi utilizado para testar a associação de variáveis.

**Resultados:** A idade média dos trabalhadores foi de  $42,8 \pm 10$  anos, a maioria das mulheres (60,9%), com obesidade e sobrepeso (37% e 38,3%, respectivamente) casados (50,9%), com ensino superior (56,5% ). A síndrome metabólica foi significativamente relacionada ao sexo masculino ( $p < 0,001$ ) e ao IMC ( $p < 0,001$ ). A prevalência da bactéria *Akkermansia muciniphila* foi de 70,5%, o que não esteve relacionado a características epidemiológicas ou hábitos saudáveis. Não foi encontrada relação significativa ( $p = 0,348$ ) entre a presença da bactéria *Akkermansia muciniphila* e a síndrome metabólica pré-mórbida.

**Conclusão:** A bactéria *Akkermansia muciniphila* não foi relacionada à síndrome metabólica nos trabalhadores do "Dr. Teodoro Maldonado Carbo ", que participou do exame anual de saúde entre 15 de fevereiro e 10 de junho de 2016.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Akkermansia muciniphila*, síndrome metabólica, trabalhadores do hospital.

## CAPÍTULO I:

### DATOS GENERALES

- 1.1. **Título:** “Relación de la bacteria *Akkermansia muciniphila* con el Síndrome Metabólico en Trabajadores del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo. Ecuador. 2015”.
- 1.2. **Área de Investigación:** Medicina.
- 1.3. **Autor responsable del proyecto:** Dra. Bertha Leonor Maggi Garcés, M.Sc. en Seguridad, Salud y Ambiente (en él trabajador).
- 1.4. **Asesor:** Dr. Aníbal Moisés Oscanoa León (Profesor principal de la Facultad de Ciencia Médicas – Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Perú) – parte metodológica.  
**Co asesor:** Dra. Nardy del Valle Diez García, Ph.D. Co Asesora Especialista. Investigadora Prometeo del Centro de Investigación de Biotecnología del Ecuador (CIBE)
- 1.5. **Institución:** Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- 1.6. **Entidades o personas con las que se coordinará el proyecto:**  
Dirección de Docencia e Investigación del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS), Guayaquil – Ecuador  
  
Instituto Nacional de Investigación Pública - INSPI “Dr. Leopoldo Izquieta Pérez”. Guayaquil – Ecuador.
- 1.7. **Duración del proyecto:** 24 meses, a partir de la aprobación del proyecto.
- 1.8. **Clave del Proyecto:** Dictamen N° 006.CTPT-SD-UPG-FM-2015.



## **CAPÍTULO 2: PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION**

### **2.1. Planteamiento del problema**

#### **2.1.1. Descripción del problema – Justificación científica del estudio**

El aumento alarmante de la prevalencia de la obesidad (Collaborators, 2017), de la diabetes tipo 2, el síndrome metabólico y la enfermedad cardiovascular aterosclerótica, demuestran el poco impacto de los tratamientos convencionales para frenar estas enfermedades (Anhê et al., 2015), (Chan, 2014), (IDF, 2017). La microbiota intestinal se ha presentado como un factor clave en la fisiopatología de estas enfermedades metabólicas inducidas por la dieta (Patrice D Cani et al., 2007b), (Bessac, Cani, Meunier, DIETRICH, & Knauf, 2018), (Sridevi Devaraj<sup>1, 2</sup>, Peera Hemarajata<sup>1, 2</sup>, James Versalovic<sup>1, 2</sup>, 2013).

Lo que se conoce hasta ahora es que el síndrome metabólico ha sido el causante de la diabetes tipo 2 y la enfermedad cardiovascular aterosclerótica y que las personas que lo padecen están en riesgo de sufrir cinco veces más de diabetes tipo 2 y de dos a tres veces más de presentar enfermedad cardíaca y accidentes cerebro vasculares que una persona que no tiene síndrome metabólico (Eckel, Grundy, & Zimmet, 2005), (Zimmet, Alberti, & Shaw, 2001), (Zimmet et al., 2001), (Zimmet, Magliano, Matsuzawa, Alberti, & Shaw, 2005), (Alberti et al., 2009), sin embargo, este síndrome es poco reconocido en el entorno clínico perdiéndose la oportunidad de captar a las personas en riesgo potencial para desarrollar diabetes tipo 2 (Sperling et al., 2015).

El síndrome metabólico es multifactorial y se caracteriza por obesidad abdominal, presión arterial elevada, aumento de triglicéridos,

disminución de la lipoproteína de baja densidad (c.HDL) y resistencia a la insulina con o sin intolerancia a la glucosa, con tres de estos cinco criterios se hace el diagnóstico de síndrome metabólico (Zimmet et al., 2005) además es común el acompañamiento de un estado proinflamatorio y protrombotico (Eckel et al., 2005); (Chan, 2014)(Zimmet et al., 2001), (Eckburg et al., 2005), (Zimmet et al., 2001), (Alberti et al., 2009), (Sperling et al., 2015), e hígado graso (Musso et al., 2008).

También se conoce que el síndrome metabólico está mediado por factores genéticos y ambientales (Cummings & Schwartz, 2003) (Castillo Hernández, 2017) (Ussar et al., 2015). El factor genético como resultado de la interacción entre los cambios de actividad física (reposo y sedentarismo) y los procesos metabólicos ocurridos en el hombre de la edad de piedra que favoreció la modificación del pool genético de tal manera que generó el desarrollo de los procesos bioquímicos que permitieron conservar, restituir y almacenar el glucógeno muscular y triglicéridos en el tejido adiposo, es decir el gen ahorrador (Neel, 1962), (Pirola & Scientific, 2018) (Sperling et al., 2015), (Núñez-Cortés et al., 2015), . El factor ambiental está determinado por los estilos de vida poco saludables propios de la industrialización, que facilita el uso eficiente de las calorías por los genes ahorradores ocasionando la pérdida de integridad de la barrera intestinal (David et al., 2014) (Korpela et al., 2014) aumento sérico de lipopolisacáridos (endotoxemia metabólica) y un estado de inflamación sistémica de bajo grado que se asocia a la obesidad, diabetes y síndrome metabólico (Salonen et al., 2014), (Carmody et al., 2015), (Núñez-Cortés et al., 2015). (Patrice D. Cani et al., 2016) (Thaiss et al., 2016), (Thaiss et al., 2016).

Pero solo estos dos factores no explican la alta prevalencia del síndrome metabólico, es así que se presenta la microbiota intestinal, como un tercer factor que interviene en la fisiopatología del síndrome metabólico y se ha demostrado que el aumento considerable de bacterias patógenas y disminución de bacterias beneficiosas produce en el huésped el desequilibrio de la microbiota llamado disbiosis, que convierte a esta

persona susceptible a desordenes inmunológicos (Hill & Artis, 2010), trastornos alérgicos, enfermedades metabólicas como la obesidad, el Síndrome metabólico, la diabetes tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas, las enfermedades inflamatorias del intestino, los síndromes neuropsiquiátricos entre ellos el autismo, el cáncer del colón, la enfermedad celiaca y la esteatosis hepática no alcohólica (Stecher, 2015), (Neish, 2009), (Fredrik Bäckhed et al., 2012), (Round & Mazmanian, 2009), (Wang, Yao, Lv, Ling, & Li, 2017).

La manejo de la microbiota intestinal podría ser una maniobra terapéutica para regular el equilibrio de energía en personas obesas, diabéticas o con síndrome metabólico, y se ha señalado que, cada vez más se requiere descubrir una microbiota propia y específica que esté presente en ellos, la misma que podrían desempeñar efectos beneficiosos en las vías metabólicas (Kalliomäki, et al., 2008). El caso de las bacterias *Roseburia intestinalis*, *Faecalibacterium prausnitzii* (Fredrik Bäckhed et al., 2012) y *Akkermansia muciniphila* son productoras de ácidos grasos de cadena corta como el acetato, propionato y butirato que fortalecen la barrera intestinal y el sistema inmunológico y contribuyen en la lucha contra los patógenos, dependiendo de la activación de la proteína G-receptor (Machiels et al., 2014). La *Akkermansia muciniphila* con su metabolito propionato se ha revelado como una comunidad prometedora para ejercer efectos anti-inflamatorios y beneficiosos para el tratamiento de las patologías metabólicas. Estos resultados han sido concluyentes en ratones, y menos concluyentes en humanos surgiendo la necesidad de investigar más su papel en los seres humanos (Dao et al., 2016).

La *Akkermansia muciniphila*, es una bacteria gran negativa, anaerobia que existe normalmente en la microbiota intestinal humana entre 1% al 3% del total de todas las bacterias (Derrien, et al., 2004), (Derrien, et al., 2008) . El porcentaje varía dependiendo de la ubicación geográfica, la edad, los hábitos dietéticos (Finegold, Attebery, & Sutter, 1974), (Wang et al., 2017) y las alteraciones del ritmo de la alimentación (Lagier, et

al.,2012). Existe estudios sobre la prevalencia de esta bacteria y su beneficio en poblaciones finlandesa, francesa, en el Sur de China entre otros países, mientras que, en el Ecuador, no existen aún estudios al respecto, sin embargo, la prevalencia de síndrome metabólico en la población general es del 27% (Freire et al., 2014), surgiendo la necesidad de investigaciones que determinen si la *Akkermansia muciniphila* también está presente en la microbiota intestinal de la población ecuatoriana y si cumple como factor protector en este grupo poblacional. La presencia de la *Akkermansia muciniphila*, podría ser un biomarcador diagnóstico y pronóstico que nos permita predecir el éxito terapéutico de las intervenciones dietéticas, de las intervenciones por cirugía Bariátrica y como tratamiento a través del uso de prebióticos, probióticos o bien imitar la acción de su proteína Amuc1100 (Roopchand et al., 2015), (Dao et al., 2016), (Arora & Bäckhed, 2016), (Anhê et al., 2015).

Para confirmar la presencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* y su posible relación con el síndrome metabólico, este proyecto determinó la prevalencia de síndrome metabólico, la prevalencia de *Akkermansia muciniphila* en heces frescas y relacionó la asociación de la esta bacteria como posible factor protector del síndrome metabólico, en los trabajadores del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo, Guayaquil – Ecuador, que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

### **2.1.2. Antecedentes de problema.**

#### **A nivel internacional**

El grupo de estudio de la obesidad a nivel mundial (2015) analizó la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (NHANES) 2005 - 2006 de los Estados Unidos de América, en una muestra de 7267 sujetos, determinando que las personas  $\geq$  a 20 años tenían pre-diabetes en el 29,5% y estaban propensos a desarrollar diabetes tipo 2 y

enfermedades cardiovasculares (Reddy., 2016). En esta investigación se excluyó a las personas que ya estaban enfermas de las patologías citadas, demostrando que el diagnóstico de síndrome metabólico premórbido fue una herramienta clínica sencilla para predecir el riesgo de estas enfermedades. Actualmente los científicos han direccionado a la microbiota intestinal como agente causal de las enfermedades metabólicas (Arora & Bäckhed, 2016).

Turnbaugh et al (2005), demostró que además de las alteraciones en la dieta y la actividad física que interviene en la obesidad, diabetes tipo 2, síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular aterosclerótica, está presente las divergencias genéticas al comparar la microbiota obtenida del intestino distal de ratones deficientes en leptina y genéticamente obesos (ob/ob) y de sus compañeros de fórmula delgados (ob/+ y +/+). Los resultados fueron que los microbios intestinales en los ratones obesos poseían genes que codifican enzimas que hidratan los polisacáridos de la dieta no digeribles. Se encontraron grandes cantidades de acetato y butirato y reducción de calorías en las heces de los ratones obesos (Turnbaugh et al., 2006).

Ley et al (2005), analizó una muestra de 5.088 secuencias del gen 16S rRNA bacteriano de la microbiota intestinal cecal en ratones genéticamente obesos (ob/ob), magros ob / + y hermanos de tipo salvaje, y sus madres ob / +, todos recibían la misma dieta rica en carbohidratos. Los resultados fueron que hubo una reducción de la proporción en la abundancia de Bacteroidetes y un aumento proporcional en Firmicutes respecto a sus compañeros de camada delgados y que esta diferencia no estaba relacionada con diferencias en el consumo de alimentos, sino en gran parte a la composición de la microbiota intestinal, concluyendo que la obesidad afecta a la diversidad microbiana y que la manipulación intencional puede ser útil para regular el balance energético en individuos obesos (R. E. Ley et al., 2005).

Cani et al (2009, 2010). Se plantearon la hipótesis de que los lipopolisacáridos bacterianos de las bacterias gram-negativas de la microbiota intestinal podría ser la causa de la inflamación observada en el Síndrome metabólico inducido por dietas ricas en grasas. En una serie de experimentos en ratones alimentados con una dieta alta en grasa, los investigadores demostraron que los cambios en la microbiota intestinal controlaba la endotoxemia metabólica, la inflamación y trastornos asociados a un mecanismo que podría incrementar la permeabilidad intestinal, concluyendo que sería útil desarrollar estrategias para cambiar la microbiota intestinal y controlar la permeabilidad intestinal, la endotoxemia metabólica y trastornos asociados (Patrice D. Cani & Delzenne, 2009), (P. D. Cani & Delzenne, 2010).

Ley et al y Ravussin et al., 2010, monitorearon la microbiota intestinal fecal de 12 pacientes gordos que participaron en un programa de pérdida de peso durante un año, ingiriendo un régimen nutricional hipocalórico restringida en grasa o en hidratos de carbono. Ellos observaron que la microbiota intestinal humana está compuesta por dos grupos dominantes de bacterias los *Bacteroidetes* y *Firmicutes* y que los *Bacteroidetes* están disminuidos en las personas obesas en relación a las delgadas. El resultado después de la pérdida de peso, fue el incremento de *Bacteroidetes* del 3% al 15% y una reducción de la abundancia de *Firmicutes*. Estos cambios se correlacionaron con el porcentaje de pérdida de peso, pero no con los cambios en el contenido calórico de la dieta, confirmando que alteraciones en la composición microbiana intestinal están asociadas con la obesidad (R. E. Ley, 2010), (Ravussin et al., 2012).

Frazier et al (2011), aborda a la microbiota intestinal como un “órgano” metabólico que influye en la adquisición de nutrientes, la homeostasis energética y, el control del peso corporal; por otra parte, la alteración de la microbiota intestinal aumenta la permeabilidad intestinal y produce endotoxemia metabólica que podría inducir a la inflamación crónica de bajo grado en el huésped que contribuye al desarrollo de la obesidad y a

las enfermedades metabólicas crónicas y el hígado graso no alcohólico (Thomas H. Frazier, 2011).

Zupancic et al (2012), estudiaron a 310 personas hombres y mujeres Amish, (una población caucásica de centroeuropea) con diferentes índices de masa corporal, quienes tenían síndrome metabólico. Caracterizó la microbiota intestinal mediante pirosecuenciación por reacción en cadena de la polimerasa de amplicones de la región V1-V3 del gen ARNr 16S. El resultado fue tres comunidades de bacterias interactuantes en la flora intestinal, de forma análoga a enterotipos intestinales previamente identificados. El análisis de redes identificó 22 especies bacterianas y 4 unidades taxonómicas operacionales que, ya sea directa o inversamente, se correlacionaron con los rasgos del síndrome metabólico, lo cual sugiere que ciertos miembros de la microbiota intestinal pueden contribuir al síndrome metabólico, en este estudio el autor no especificó si una de ellas fue *Akkermansia muciniphila* (Zupancic et al., 2012)

Derrien et al (2004), En una muestra fecal de una mujer sana adulta caucásica voluntaria, describió el aislamiento y la caracterización de la cepa Muc<sup>T</sup>, en bacterias mucino degradantes. Cultivó la muestra en un medio que contenía mucina como única fuente de carbono y energía, mediante el método del número más probable. La lectura del crecimiento bacteriano se realizó por electroforesis en gel con gradiente desnaturaizante (DGGE) de secuencia de genes 16S rRNA amplificados por reacción en cadena de la polimerasa. Sobre la base de características morfológicas, fisiológicas y filogenéticas de la cepa Mut<sup>T</sup>, propuso un nuevo género llamado *Akkermansia*, con la especie *Akkermansia muciniphila* generación. nov., sp. nov. Esta bacteria formaba parte de la microbiota intestinal normal en un porcentaje del 1 al 3% (Derrien et al., 2004).

Collao et al (2007), determinó la presencia de *Akkermansia muciniphila* en niños desde un mes de nacido, en adultos y ancianos. Demostró que el porcentaje normal de esta bacteria se alcanza al año de edad y

disminuye en los ancianos mayores de 80 años. Los niveles en los adultos fueron de 5.00 a 8.80 log células/g. Estos datos sugieren que el aumento de las concentraciones de *Akkermansia muciniphila* podría relacionarse con un tracto intestinal saludable, mucosa sana y producción de moco normal. Se necesitan más estudios para aclarar el papel de la *Akkermansia muciniphila* en el desarrollo de la microbiota y el desarrollo inmunológico en la primera infancia y en la vejez (Collado, 2007).

Derrien., *et al* (2008), publicó por primera vez el diseño y validación de la sonda filogenética 16S rRNA, MUC 1437, para determinar la presencia y número de células de *Akkermansia muciniphila*. Usando muestras de heces humanas de niños y adultos, a través de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) en combinación con citometría de flujo, determino que la *Akkermansia muciniphila* es común de la microbiota intestinal y representa del 1 % al 4% del total de la microbiota intestinal y que su presencia protege la integridad de la barrera intestinal (Derrien *et al.*, 2008).

Dao *et al* (2014), aplicaron un período de restricción calórica de 6 semanas seguido de una dieta de estabilización de peso de 6 semanas en adultos con sobrepeso y obesos en una muestra de 49 personas, incluidas 41 mujeres. La cantidad de *Akkermansia muciniphila* en heces y los parámetros bio-clínicos fueron medidos antes y después de la intervención. El resultado fue estabilización del peso, mejora de los parámetros bioquímicos y aumento en la cantidad de *Akkermansia muciniphila*. Los investigadores llegaron a la conclusión que el aumento de *Akkermansia muciniphila* se asocia con un estado metabólico más saludable y mejores resultados clínicos después de una dieta con restricción calórica (Dao *et al.*, 2016).

Guo *et al* (2016), tuvieron como objetivo investigar la tasa de colonización de *Akkermansia muciniphila* en los tractos gastrointestinales de las personas que viven en el sur de China y



aplicaron un método modificado para el aislamiento y el subtipo de cepas de *Akkermansia muciniphila* en 172 muestras fecales frescas de personas sanas. Extrajeron el ADN total y utilizaron dos cebadores (primers) AM1, 5' CAG CAC GTG AAG GTG GGG AC 3' y AM2, 5' CCT TGC GGT TGG CTT CAG EN 3' para las regiones variables de la secuencia del gen rRNA 16s de la bacteria *Akkermansia muciniphila*. El resultado indicó que la tasa de colonización de *Akkermansia muciniphila* en la población del Sur de China fue de 51,74% en comparación con la tasa de colonización de los europeos que fue de 74,70% (Guo et al., 2016).

Zhang et al (2013), en una muestra de 121 personas adultas inscritos en el estudio en Beijing, China, dividieron en 3 grupos: n=44 relación M/F- 12/ 32 con tolerancia a la glucosa normal, edad promedio  $55 \pm 9$  años; pre-diabetes n=64, relación M/F- 23/41, edad promedio  $54 \pm 7$  año y personas con diabetes tipo 2 recientemente diagnosticada n= 13, relación M / F = 7/6, edad promedio  $52 \pm 9$  años, compararon los tres grupos y mostraron que en los grupos de pre-diabetes y de reciente diagnóstico de diabetes tipo 2 los niveles *Akkermansia muciniphila* no fue estadísticamente significativa (Zhang et al., 2013).

Everard et al (2013), tuvo como objetivo probar de que la *Akkermansia muciniphila* juega un papel decisivo en la interacción biológica entre la microbiota intestinal y el anfitrión que controla la función de la barrera intestinal y las funciones fisiológicas y homeostáticos durante la obesidad y la diabetes tipo 2. Este estudio demostró que el aumento de la *Akkermansia muciniphila* en ratones obesos y con diabetes tipo 2 se correlaciona con un perfil metabólico mejorado (Everard et al., 2013).

Adicionalmente Everard et al, demostró que el tratamiento con *Akkermansia muciniphila* viva, revirtió la ganancia de masa grasa, endotoxemia metabólica, la inflamación del tejido adiposo, y la resistencia a la insulina, además elevó los niveles intestinales de endocannabinoides que controlan la inflamación, la barrera intestinal, y

la secreción de péptido intestinal en comparación con el tratamiento de *Akkermansia muciniphila* muertas por calor que no mejoró el perfil metabólico ni el grosor de la capa del moco (Everard et al., 2013).

Lukovac S et al (2014), Caracterizaron los efectos de la microbiota en el epitelio del huésped utilizando un nuevo modelo ex vivo basado en organoides ileales de ratón. Exploraron la respuesta transcripcional de los organoides tras la exposición a ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y productos generados por la *A muciniphila* y *Faecalibacterium prausnitzii*. Observaron que los metabolitos de *Akkermansia muciniphila* afectaron diversos factores de transcripción y genes implicados en el metabolismo y crecimiento de los lípidos celulares, en contraste con los productos de *F. prausnitzii* que ejercieron efectos débiles en la transcripción del anfitrión, concluyendo que la *Akkermansia muciniphila* tuvo un mejor efecto (Lukovac et al., 2014).

Otro hallazgo fue que, *Akkermansia muciniphila* y su metabolito propionato modulan la expresión de Fiaf, Gpr43, histona desacetilasas (HDAC) y receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma (PPAR), importantes reguladores de la regulación del factor de transcripción, control del ciclo celular, lipólisis y saciedad (Lukovac et al., 2014).

De Vos (2017), aborda la *Akkermansia muciniphila* como un guardian de la mucosa intestinal humana, esta se encuentra en forma abundante en el tracto intestinal (1 al 4%) (Derrien et al., 2008) de personas sanas pero se encuentra disminuida en los adultos que sufren de obesidad, diabetes tipo 2, síndrome metabólico. Es el único representante del phylum Verrucomicrobia cultivado en las heces humanas, viven en simbiosis con su huésped, degrada la mucina intestinal en ácido propionico y acético. El impacto beneficioso en la salud fue determinado al analizar la respuesta transcripcional de ratones sin gérmenes monoasociados con *Akkermansia muciniphila* que mostraron un aumento de la señalización

inmune y metabólica, lo que reveló una interacción cruzada específica entre el huésped y el microbio (de Vos, 2017).

Plovier et al (2016), demostraron que la *Akkermansia muciniphila* presenta una proteína específica Amuc\_1100, en el exterior de la membrana y que esta interactúa con los receptor tipo Toll 2, estas proteínas es estable a las temperaturas utilizadas para la pasteurización, mejora la barrera intestinal y en parte recapitula los efectos beneficiosos de la bacteria, llegaron a la conclusión que la *Akkermansia muciniphila* con vida o pasteurizada cultivada en un medio artificial es segura para los humanos (Plovier et al., 2017).

### **A nivel de Latinoamérica.**

Gotteland et al (2017), con la finalidad de tener una línea de base de la microbiota intestinal sana, caracterizó la microbiota intestinal de personas chilenas utilizando la secuenciación del gen16S rRNA, en una muestra de 41 voluntarios jóvenes, asintomáticos y de peso normal (edad:  $25 \pm 4$  años; mujeres: 48,8%; IMC:  $22.5 \pm 1.6$  kg / m<sup>2</sup>) con niveles bajos de marcadores inflamatorios en plasma (IL6 y hsCRP) y colónico (fecal calprotectina). El ADN se amplificó y se secuenció utilizando el sistema MiSeq Illumina.  $109,180 \pm 13,148$ . Obtuvieron secuencias con una diversidad  $\alpha$  de  $3.86 \pm 0.37$ . El dominante phyla fueron Firmicutes ( $43.6 \pm 9.2\%$ ) y Bacteroidetes ( $41.6 \pm 13.1\%$ ), seguidos por Verrucomicrobia ( $8.5 \pm 10.4\%$ ), Proteobacteria ( $2.8 \pm 4.8\%$ ), Actinobacteria ( $1.8 \pm 3.9\%$ ) y Euryarchaeota ( $1.4 \pm 2.7\%$ ). Entre los géneros se incluyeron *Akkermansia*. Concluyendo que la microbiota chilena es igual que a los de europeos (Fujio-Vejar et al., 2017).

De la Cuesta – Zuluaga et al (2017), tuvo como objetivo, determinar la asociación entre diabetes tipo 2, metformina y microbiota intestinal de adultos colombianos que viven en la comunidad en base a la hipótesis de que la metformina estaba relacionada con niveles alto de microbiota que produce mucina y ácidos grasos de cadena corta. Seleccionaron de una corte de 459 participantes a 28 personas de ambos sexos de 18 a 62 años con diabetes tipo 2, de los cuales 14 pacientes recibieron

tratamiento con metformina y 14 recibieron otro tratamiento para diabetes sin metformina, compararon cada paciente con diabetes con 3 personas sin diabetes en relación al sexo, edad e IMC en total 84 participantes (relación 1:3). Analizaron la información demográfica, antropométrica, bioquímica sanguínea y para determinar la microbiota intestinal en heces la secuenciación la realizaron en base al gen del ARNr 16S. Los resultados de la investigación determinaron que la metformina tiene efectos en la microbiota intestinal a través del aumento de la *Akkermansia muciniphila* versus a las personas que no tomaron el fármaco en mención (De La Cuesta-Zuluaga et al., 2017).

### **En el Ecuador.**

Álvarez, et al (2015) en su trabajo de investigación “Extracción y determinación de inulina del ajo común autóctono (*Allium sativum*)”, aborda los estudios de Franck, et al (2002), Kaur, et al (2002), Cani, et al (2008, 2009), quienes comprobaron y evaluaron que los prebióticos que contenían fructanos tipo inulina e inulina de alto rendimiento (HP), tenían efecto inmunomodulador y antioxidante al observar que, las ratas que consumían inulina, tenían una disminución de la masa grasa; Álvarez apunta a la producción de prebióticos que contiene inulina para incrementar el porcentaje de la *Akkermansia muciniphila* en la microbiota intestinal como factor protector de las enfermedades metabólicas entre ellas el síndrome metabólico (Alvarez- Borroto, Ruano- Nieto, Calle- Miñaca, & Lara- Fiallos, 2015).

## **2.1.3. Fundamentos**

### **Marco Teórico.**

#### **Antecedentes de la Microbiota Intestinal.**

El creciente aumento de la prevalencia de la obesidad (Popkin, Adair, & Ng, 2012) (Collaborators, 2017), el síndrome metabólico, la diabetes tipo 2, las enfermedades cardiovasculares (Hossain, Kavar, & El Nahas, 2007) y el fracaso de los tratamientos convencionales han direccionado

a buscar nuevos enfoques científicos para controlar estas enfermedades (Anhê et al., 2015) que representan un problema de salud pública en el siglo XXI (Chan, 2014).

El síndrome metabólico ha aumentado de forma preocupante en los últimos años en la mayor parte de los países del mundo y constituye una de las principales amenazas para la salud de la población a nivel mundial y un potencial riesgo para el desarrollo de la diabetes tipo 2 (Abdelaal, le Roux, & Docherty, 2017). Estudios experimentales en animales y humanos, sobre la microbiota intestinal y entre ellas la *Akkermansia muciniphila* se ha considerado un punto clave para revertir la endotoxemia metabólica que acarrea la obesidad como componente del síndrome metabólico, la diabetes tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares (Everarda et al., 2013), (Patrice D. Cani & de Vos, 2017a)

La microbiota nativa está constituida por el conjunto de microorganismos (bacterias, hongos, arqueas, virus y parásitos) (Neish, 2009) que colonizan permanentemente la superficie de la piel y de las mucosas y juegan un papel fundamental en nuestra vida, tan esencial, que sin la presencia de ella sería imposible la vida; por tanto, la relación es, generalmente, beneficiosa para los dos socios de la simbiosis (Suárez, 2015), (Tinahones, 2017).

Los microorganismos que componen la microbiota intestinal son muy abundantes (Savage & C, 1977), tal es el caso, que a nivel intestinal la mitad del volumen de nuestras heces está constituido por la microbiota que habitan en nuestro aparato digestivo y que han sido arrastrados al exterior (Suárez, 2015). El material genético de las bacterias que colonizan el cuerpo se llama microbioma, y contiene entre 100 y 150 veces más genes (Fredrik Bäckhed et al., 2004), (P. Cani & ; Delzenne, 2007), que el propio genoma humano esto implica que por cada 10 células 9 son bacterias y 1 célula es humana (Savage & C,

1977), (Patrice D. Cani & Delzenne, 2011), (Kawior et al., 2014), (Tinahones, 2017).

El conocimiento de la microbiota Intestinal viene desde muchos años atrás y siempre mostró interés por su estudio, desde 1880 Theodor Escherich realizó aportes significativos con sus investigaciones sobre la microbiota de las heces y su relación con el funcionamiento normal de la digestión (Suárez, 2015). En 1972 Luckey formuló la teoría de que la microecología es esencial para entender el comportamiento de la microbiota intestinal como un ecosistema dinámico no solo fermentador, que tiene una interacción mutua con el intestino y con el individuo (Qin et al., 2010). El proyecto del genoma Humano contribuyó al esclarecimiento del genómico intestinal (Peterson et al., 2009) (Moraes & Góes, 2016) (Bonder et al., 2016).

Desde entonces la microbiota Intestinal ha despertado mucho interés por parte de los científicos y en estos últimos 10-15 años mucho más, prueba de ello se han realizado investigaciones que han vinculado la microbiota intestinal con diversas patologías, para lo cual, se ha introducido nuevas metodologías de estudio que han incrementado la percepción de la diversidad y funciones de la microbiota, poniendo interés en los efectos que produce el desequilibrio intestinal (disbiosis intestinal) (Patrice D Cani et al., 2008), (Kawior et al., 2014), (Alarcón., 2016), (Dao et al., 2016).

La microbiota intestinal endógena es considerada un “órgano” esencial (Fredrik Bäckhed, Ley, Sonnenburg, Peterson, & Gordon, 2005) (Eckburg et al., 2005) que tiene como función la protección contra las lesiones de las células epiteliales (Rakoff-Nahoum, Paglino, Eslami, Stephen, & Medzhitov, 2015), regulación del almacenamiento de grasa en el huésped (Fredrik Bäckhed et al., 2004) y estimulación de la angiogénesis intestinal (Erwin G Zoetendal et al., 2002), interviniendo en la nutrición, desarrollo del epitelio, equilibrio de la barrera intestinal y desencadenando la inmunidad innata y efectos beneficiosos que podrían ser utilizados en el futuro en la prevención y tratamiento de procesos

infecciosos, autoinmunes y metabólicos (Eckburg et al., 2005), pero también está vinculada con diversas patologías como enfermedades inflamatorias del intestino, trastornos alérgicos y autoinmunes, cáncer de colon, síndromes neuropsiquiátricos, enfermedades metabólicas, como obesidad, enfermedad cardiovascular y diabetes tipo 2 (Khanna & Tosh, 2014) (Neish, 2009).

### Ecología de la microbiota intestinal.

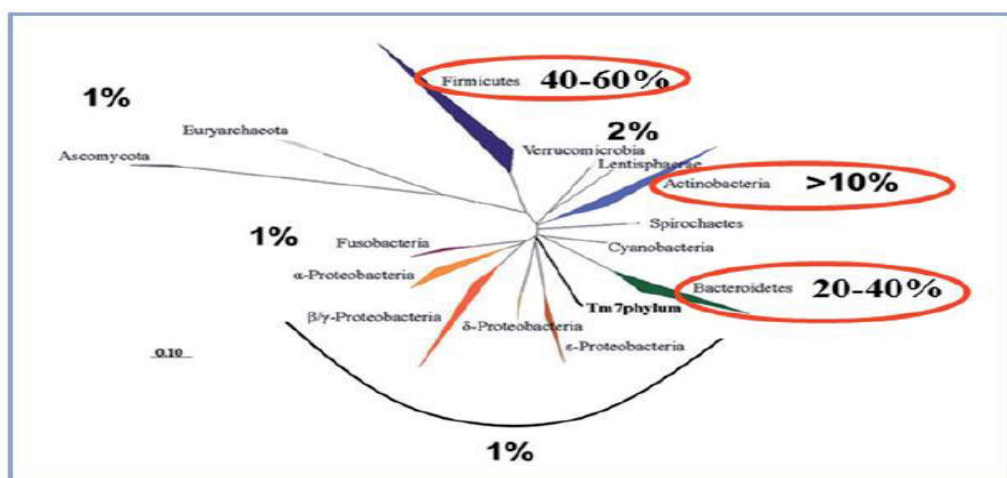
La microbiota intestinal es la presencia colectiva de microorganismos en una comunidad o hábitat en este caso el intestino humano (Cho & Blaser, 2012), mientras que los constituyentes de la microbiota, que van desde genes bacterianos, proteínas y metabolitos, se denominan colectivamente microbioma (Korecka & Arulampalam, 2012, pág 1). Actualmente la microbiota hace referencia a bacterias, arquea y el grupo eukaria que incluyen protozoos y hongos en el intestino humano. Existe 1014 bacterias que pertenecen a más de 500 especies diferentes formando un ecosistema microbiano muy diverso, pesa alrededor de 2 gramos (Stecher, 2015).

Tabla 1. Diversidad taxonómica de los microorganismos que conforman la microbiota autóctona.

<i>Dominio</i>	<i>Reino</i>	<i>Filo</i>	<i>Clase</i>	<i>Ejemplo</i>
Archaea	Archaea	A.II. Euryarcheota	Methanobacteria	Metanógenos intestinales
		B.XII. Proteobacteria	Gammaproteobacteria	<i>Escherichia</i> (intestino grueso)
			Epsilonproteobacteria	<i>Helicobacter</i> (estómago)
		B.XIII. Firmicutes	Clostridia	<i>Lachnospira</i> , <i>Faecalibacterium</i> , <i>Roseburia</i> (intestino grueso)
Bacteria	Bacteria		Bacilli	<i>Lactobacillus</i> (vagina, intestino delgado), <i>Staphylococcus</i> (piel), <i>Streptococcus</i> (boca)
		B.XIV. Actinobacteria	Actinobacteria	<i>Bifidobacterium</i> (intestino grueso), <i>Propionibacterium</i> (piel, intestino grueso), <i>Corynebacterium</i> (piel), <i>Gardnerella</i> (vagina)
		B. XX. Bacteroidetes	Bacteroidetes	<i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> (intestino grueso)
	Protista	Protozoa	Rhizopoda	Amebas comensales (boca, intestino)
			Mastigophora	<i>Giardia</i> (duodeno)
Eukaryota	Fungi	Ascomycota	Saccharomycetes	<i>Candida</i> (vagina, boca, intestino grueso)
		Basidiomycota	Exobasidiomycetes	<i>Malassezia</i> (piel)
	Animalia	Arthropoda	Arachnida	<i>Demodex</i> (ácaros de la piel)

Fuente: Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos (Suárez, 2015)

Los primordiales filos bacterianos que componen la microbiota intestinal son los Firmicutes y los Bacteroidetes y representan alrededor del 90% del total de las bacterias, junto con las Actinobacterias (Eckburg et al., 2005); otros filos sub-dominantes también están presentes como las Proteobacteria, Fusobacteria y Verrucomicrobia (Figura 1). Se calcula que alrededor de 1014 microorganismos, en su gran mayoría (> 99,9%) anaeróbicos, están alojados en el tubo digestivo, principalmente en la parte final del colon (Suau et al., 1999), (Hayashi, Sakamoto, & Benno, 2002), (Gotteland, 2013), (Wang et al., 2017).



**Figura 1.** Los principales filos bacterianos que entran en la composición de la microbiota intestinal en el ser humano. Los Firmicutes y los Bacteroidetes representan el 90% de la MI.

**Fuente:** El rol de la microbiota intestinal en la evolución de la obesidad y de la diabetes tipo 2 (Gotteland, 2013)

La distribución de la microbiota intestinal a lo largo del tubo digestivo no es homogénea sino que sigue una gradiente próximo-distal; las concentraciones de microorganismos bajas en estómago aumentan paulatinamente en el duodeno, en el yeyuno y el íleo hasta alcanzar sus máximos en el colon. Cada segmento del intestino está habitado por bacterias comunes al medio y la abundancia de ellas se representan por unidades formadoras de colonias (Figura 2) (Korecka & Arulampalam, 2012).



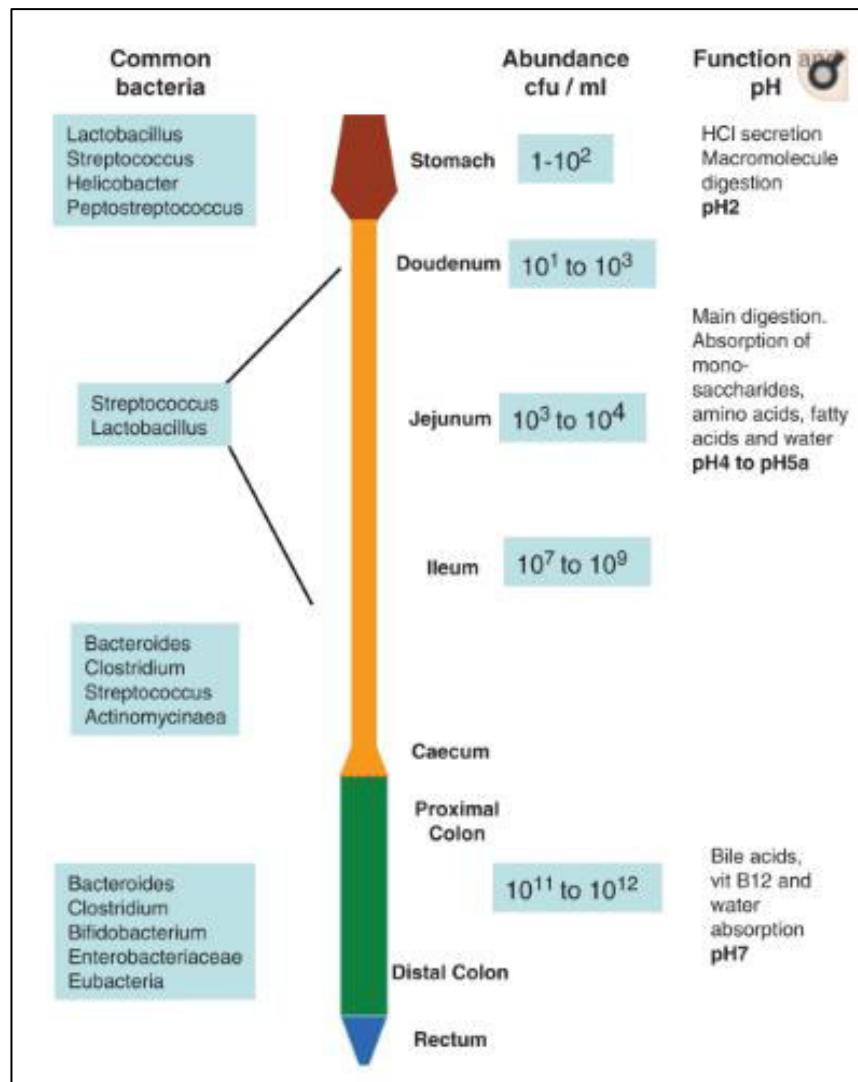


Figura 2. Representación esquemática del tracto gastro intestinal (GI) inferior que muestra las bacterias comunes que se encuentran en varias partes del tracto GI, la abundancia de bacterias en ufc / ml, las principales funciones intestinales y los valores del pH que se encuentran a lo largo del tracto GI. ufc: unidades formadoras de colonias.

Fuente: The gut microbiome: Scourge, sentinel or espectador? (Korecka & Arulampalam, 2012).

Paralelamente, existe el gradiente de permeabilidad epitelial que es una función esencial de la barrera intestinal, está determinada por las uniones estrechas, este gradiente tiene que ver con la absorción de nutrientes y eliminación de desechos que ocurre durante el periodo post-prandial para restablecer la iso-osmolaridad del contenido luminal, la permeabilidad epitelial es mayor en el duodeno y va disminuyendo progresivamente en el yeyuno e íleo y llega a su mínimo en el colón,

este hecho demuestra el incremento de la función de barrera intestinal, lo que le permite al epitelio colónico hacer frente a la mayor densidad de microorganismos presentes a este nivel; finalmente, existe, un gradiente de inmunidad relacionado con la densidad y tamaño de los folículos linfoides y de las placas de Peyer, que adicionan a la mucosa gran parte de las células inmunes, aumentando desde el intestino proximal hasta el colon (Figura 3). La homeostasia del ecosistema digestivo está determinado por el equilibrio entre estos tres componentes: microbiota, permeabilidad intestinal e inmunidad local. Cualquier factor que afecte uno de estos componentes tendrá repercusión sobre los demás e impactará negativamente sobre todo el organismo (Turner, 2009).

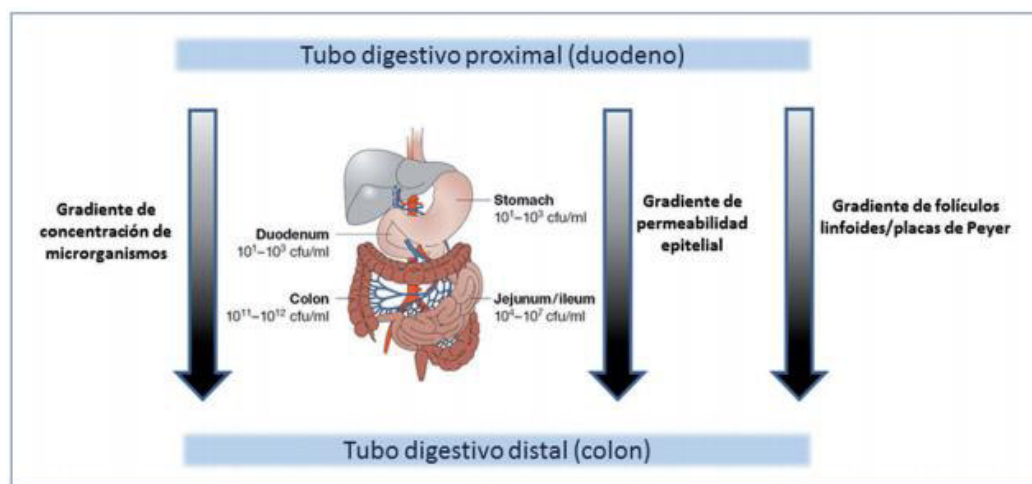


Figura 3: Gradiente próximo-distal de distribución de la microbiota intestinal, gradiente de permeabilidad. Las concentraciones de microorganismos y las células inmunes en la mucosa son mayores en el colon que en el intestino, mientras que el epitelio colónico es más impermeable que en el epitelio intestinal.

Fuente: El papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la obesidad y de la diabetes de tipo 2. (Gotteland, 2013).

### Interacción Microbiota-hospedador

Fisiológicamente las interacciones microbiota-hospedador en la mucosa del intestino desempeñan un papel muy importante en el desarrollo de un ecosistema equilibrado que mantiene la integridad del enterocito, regula los procesos metabólicos y del sistema inmune, tanto humoral

como celular y protege de la colonización de patógenos invasivos (Bäckhed, Ley, Sonnenburg, Peterson, & Gordon, 2005),

La microbiota intestinal colonica participa en la homeostasis del individuo, porque realiza una serie de funciones claves como la degradación de polisacáridos no digeribles de la dieta y regulación del almacenamiento de la energía obtenida (Fredrik Bäckhed et al., 2004) (Turnbaugh et al., 2006), biotransformación de xenobióticos (Barbosa & Levy, 2000), síntesis de vitaminas esenciales e isoprenoides, modulación del sistema inmune y participación en el efecto protector de la barrera intestinal (Nicholson et al., 2012), es decir que la microbiota intestinal participa en el metabolismo de todo el cuerpo al afectar el balance energético (Patrice D. Cani, Osto, Geurts, & Everard, 2012)(P. D. Cani & Delzenne, 2010).

La ingesta de dietas ricas en grasas y proteínas y baja en fibra esta ligada a una pérdida de la integridad de la barrera intestinal y con el desarrollo de endotoxemia metabólica, que se manifiesta por un aumento sérico de lipopolisacáridos (LPS) y un estado de inflamación sistémica de bajo grado que se asocia a la obesidad. La propuesta de una alimentación con prebióticos y probióticos, para el mejoramiento de la funcionalidad intestinal a través de la regulación de la microbiota, el metabolismo y la respuesta inmune, se considera una propuesta de actuación positiva frente a la obesidad (Cani & Delzenne, 2011)

### **Interacción de la microbiota intestinal, la dieta y el paciente obeso.**

Investigaciones realizadas con grupos de poblaciones humanas han demostrado la existencia de diferencias de microbiota entre individuos delgados y obesos (R. E. Ley, 2010), incluso entre gemelos obesos y delgados a nivel de la función de genes microbianos implicados en el metabolismo de nutrientes (Turnbaugh et al., 2008). El consumo de dietas ricas en grasas altera la composición de la microbiota intestinal tanto en humanos como en animales de experimentación (Cani et al., 2007, a) (Cani et al., 2007b) ocasionando una **reducción** de

*Bifidobacterium* ssp, del grupo *Eubacterium rectale/Clostridium coccooides* y *Bacteroidetes* y de los *Lactobacillus* ssp y *Roseburia* ssp y un **incremento** de los *Firmicutes* y *Proteobacteria*, este fenómeno se pudo observar en la obesidad producida por la dieta y la obesidad genética. (*ob/ob* o *db/db*) (Cani et al., 2007c), (Dewulf et al., 2011), (Turnbaugh, Bäckhed, Fulton, & Gordon, 2008), (Ravussin et al., 2012). También en embarazadas con sobrepeso se ha descrito menor contenido de *Bifidobacterium* y un aumento de *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli* (Santacruz et al., 2010).

Ehrlich y Warcoin han establecido que la ausencia de *Bacteroides pectinophilus*, *Eubacterium siraeum* y *Clostridium phytofermentans* y la presencia de *Anaerotruncus colihominis* son indicativos de obesidad, mientras que *Akkermansia* está presente durante la pérdida de peso en individuos sometidos a restricción calórica (Requena et al., 2013).

Las investigaciones también han demostrado que los animales de laboratorio libres de microorganismos son resistentes a la obesidad inducida por la dieta, y que los animales estándar alimentados con dietas de alto contenido en grasas generan disbiosis (desequilibrio) en su microbiota intestinal y conduce a la reducción de la integridad de la barrera intestinal. Los cambios en la microbiota intestinal asociados al consumo de una dieta rica en grasas son la reducción de *Bifidobacterium*, del grupo *Eubacterium rectale/Clostridium coccooides* y de *Bacteroides*. Se ha establecido una correlación negativa muy significativa entre el número de bifidobacterias y el nivel de endotoxemia por LPS (Cani & Delzenne, 2011).

### **Modificaciones de la Barrera intestinal y permeabilidad intestinal.**

La función de la barrera intestinal puede verse afectada por un aumento de la permeabilidad (Wells, Rossi, Meijerink, & van Baarlen, 2011) tal es el caso de la diabetes tipo 1, una enfermedad autoinmune que se caracteriza por la permeabilidad aumentada del intestino delgado (Damci et al., 2003), igual condición presenta la esteatohepatitis no alcohólica

(Wigg et al., 2001) y la esclerosis múltiple en el cerebro (Yacyszyn et al., 1996). El ingreso de antígenos no deseados puede inducir a un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, caracterizado por un estado inflamatorio generalizado y falla orgánica múltiple (Liu, Li, & Neu, 2005).

El epitelio intestinal está formado por una sola capa de células epiteliales que se renuevan de 4 a 5 días, esta compuesto de criptas que contiene células llamadas enterocitos (90-95 %) que son absorbentes de nutrientes, agua y cloro al lumen intestinal, células de Goblet o caliciformes secretoras de mucina, células enteroendocrinas secretoras de hormonas y las células de Paneth secretoras de péptidos antimicrobianos y encargadas de la inmunidad innata, separa el lumen intestinal de la lámina propia subyacente, permite la absorción de nutrientes y a la vez actúa como barrera evitando que los antígenos y los patógenos entren en los tejidos de la mucosa produciendo enfermedades (van der Flier & Clevers, 2009).

El espacio entre una célula y otra célula está sellada por un complejo de unión intercelular, compuesto por uniones estrechas (tight junctions), uniones adherentes, uniones comunicantes y desmosomas, estructuras dinámicas que restringen el paso de macromoléculas y es decisivo para el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal. Las uniones adherentes están ubicadas debajo de la unión estrecha y están involucradas en la adhesión célula-célula y en la señalización intracelular (Farquhar & Palade, 1963). Estas dos uniones forman el complejo de unión apical y están asociadas a la actina del citoesqueleto (Perezmoreno & Fuchs, 2006) . Los desmosomas y las uniones comunicantes están implicados en la adhesión célula-célula y la comunicación intracelular (Madara, 1987) y las uniones estrechas que regulan la permeabilidad e integridad de la barrera intestinal. La ruptura del citoesqueleto está asociado con la pérdida de integridad de la barrera intestinal (Ulluwishewa et al., 2011).

La estructura de la unión estrecha es compleja y comprende más de 50 proteínas transmembranas que median la adhesión de célula-célula y sellan el espacio paracelular entre las células epiteliales. Se pueden dividir en proteínas de cuatro tramos y un solo tramo. Las proteínas de cuatro tramos son la ocludina, la familia de proteínas claudina y la tricelulina y contienen 4 dominios transmembrana y 2 bucles extracelulares, con los terminales N y C en el citoplasma (Furuse, Fujita, Hiiragi, Fujimoto, & Tsukita, 1998) (Ikenouchi et al., 2005). Las proteínas transmembrana de un solo tramo son en su mayoría moléculas de adhesión de unión (JAM) (M. Balda & Matter, 2000).

Las claudinas son la columna vertebral de la estructura de las uniones estrechas (Morita, Sasaki, Furuse, & Tsukita, 1999) (27). La Claudina 1, 3, 4, 5 y 8 a nivel intestinal aprietan las uniones estrechas disminuyendo la permeabilidad paracelular, mientras que la claudina-2 forma poros paracelulares selectivos de carga (Bücker, Schumann, Amasheh, & Schulzke, 2010). En cambio las funciones de las claudinas 7, 12 y 15 no están claras, ya que sus efectos en la función de la barrera intestinal no se ha definido aún y varían según el sistema modelo estudiado (Bücker et al., 2010). La ocludina también se ha relacionado con la regulación de la difusión intermembrana y la difusión paracelular de moléculas pequeñas (Balda, Whitney, & Flores, 1996). Se compararon cultivos de células renales caninas de Madin Darby que expresan ocludina de tipo salvaje y los cultivos que expresan mutantes de ocludina truncados, estos exhiben un aumento del flujo paracelular de marcadores de moléculas pequeñas, mientras que la resistencia eléctrica transepitelial (TEER- medida de permeabilidad iónica), no se ve afectada (Balda, Whitney, & Flores, 1996) en cambio la claudina sella el espacio entre 2 células adyacentes, la barrera en las uniones entre 3 células epiteliales se ve reforzada por la tricelulina. La supresión de la expresión del gen de la tricelulina afecta la integridad de la barrera epitelial (Ikenouchi et al., 2005).

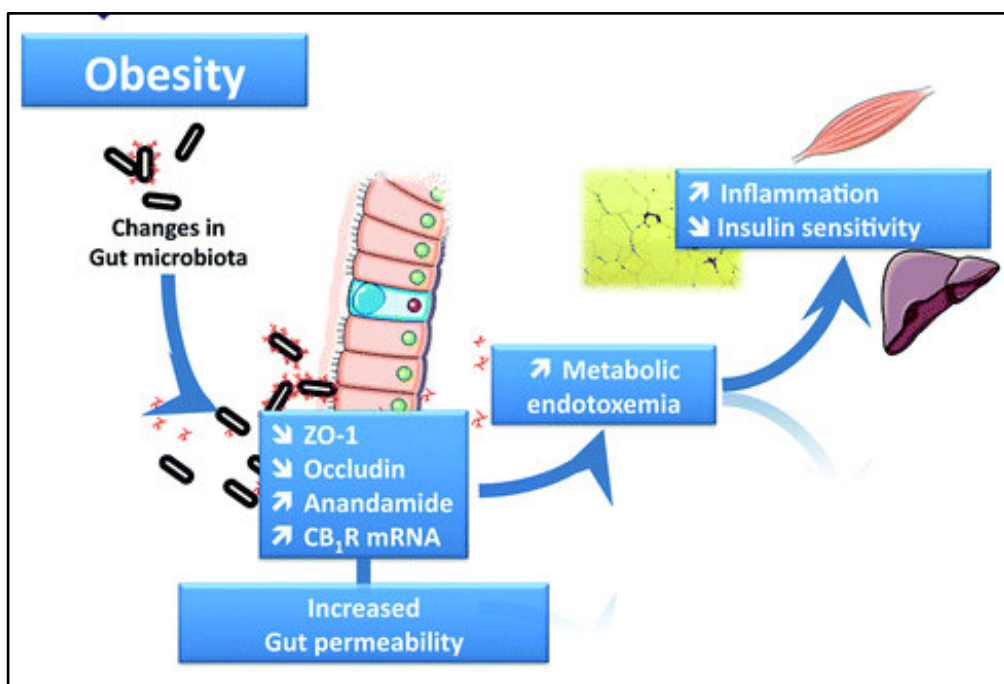
La familia de las moléculas de adhesión de unión tienen un dominio transmembrana y otro citoplasmático C terminal (Bazzoni, 2003). Se ha

demostrado que las moléculas de adhesión de unión A y el receptor de coxsackie y adenovirus (proteínas de moléculas de adhesión de unión), regulan la función de barrera epitelial, reduciendo la permeabilidad paracelular (Padura et al., 1998) (Cohen et al., 2001). Estas proteínas también están implicadas en el ensamblaje de uniones estrechas-A y los receptores de coxsackie y adenovirus reclutan proteínas de uniones estrechas específicas y promueven su localización en los límites celulares (Bazzoni et al., 2000).

Los dominios PDZ se identificaron originalmente como elementos de secuencia conservados dentro de la proteína de densidad postsináptica PSD95 / SAP90, el supresor de tumores de *Drosophila* dlg-A y la proteína de unión estrecha ZO-1. “PSD95 – DlgA – ZO-1” (PDZ). Los dominios PDZ de las proteínas en placa se unen a los dominios PDZ de otras proteínas, formando un andamio, o interactúan con secuencias C-terminales específicas de proteínas transmembrana para anclarlas al citoplasma (Fanning & Anderson, 1999). Se han identificado varias proteínas PDZ, incluidas las proteínas zonula occludens (ZO), ZO-1, ZO-2 y ZO-3, que poseen 3 dominios PDZ. El primer dominio PDZ de ZO-1 interactúa con las proteínas claudinas (Masahiko et al., 1999), el segundo dominio de ZO-1 interactúa con otras proteínas ZO para formar dímeros (Utebergenov, Fanning, & Anderson, 2006) y el tercer dominio PDZ de ZO-1 interactúa con moléculas de adhesión de unión-A (Masahiko et al., 1999). Las proteínas de la placa pueden desempeñar un papel central en la regulación de la unión estrecha, ya que pueden causar la reorganización del citoesqueleto. Por ejemplo, ZO-1 se une directamente a F-actina (Fanning, Ma, & Anderson, 2002), mientras que AF-6 (otro compañero de unión de JAM-A) es un efector de la familia Rho de pequeñas GTPasas, proteínas de señalización involucradas en la regulación de unión estrecha (Linnemann et al., 1999)

Las investigaciones realizadas en personas y animales obesos revelaron una pérdida de la integridad de la barrera intestinal y el desarrollo de endotoxemia metabólica, caracterizada por un aumento sérico de lipopolisacáridos dos a tres veces más de los lipopolisacáridos

circulantes normalmente, y otros componentes del peptidoglicano de la pared celular bacteriana, que conducen a un estado de inflamación sistémica de bajo grado y resistencia a la insulina a nivel del hígado, tejido adiposo y músculos . El mecanismo por lo que se produce incluye ruptura de las proteínas de la unión estrecha *zonula occludens* (ZO-1) y *Occludin* y un aumento del tono del sistema endocabinoide (eCB) con una mayor expresión de anandamida y los receptores endocabinoides 1 (CB1R) aumentando la permeabilidad el epitelio intestinal (Fig. 4). (Cani et al., 2008).



**Figura 4.** La microbiota intestinal controla la función de barrera intestinal y el inicio de la endotoxemia metabólica. La obesidad inducida por la dieta y la obesidad genética ( ob / ob o db / db ) se asocian con cambios en la composición de la microbiota intestinal. Esto conduce a la alteración de la función de la barrera intestinal a través de varios mecanismos, que incluyen una distribución alterada de las proteínas de unión estrecha ZO-1 y Occludin y un aumento del tono del sistema eCB con una mayor expresión de anandamida y CB 1 R. Estos fenómenos promueven la endotoxemia metabólica e inician el Desarrollo de inflamación de bajo grado y resistencia a la insulina en el hígado, los músculos y el tejido adiposo.

**Fuente:** (Patrice D Cani et al., 2008)



### **Interacción entre la microbiota intestinal y sistema inmune.**

El revestimiento epitelial de las membranas mucosas es generalmente vulnerable y cubre un área de varios cientos de metros cuadrados en un adulto, unas 200 veces más grande que la piel (Brandtzaeg, 2009) y el 80% de la producción de anticuerpos del cuerpo tiene lugar localmente en la lámina propia del intestino, principalmente proporcionando IgA dimérica lista para la exportación mediada por el receptor de la Inmunoglobulina polímero epitelial (Brandtzaeg et al., 1989).

El epitelio del tracto intestinal está protegido por una capa de moco que es renovada regularmente. Dentro de esta capa se encuentran moléculas de defensa que permiten al hospedador evitar el contacto directo de los microorganismos con el epitelio y los tejidos de la mucosa subyacentes. La colonización de esta capa protectora está en relación a ciertas características microbianas como la capacidad de adherirse a la capa de moco, la obtención de nutrientes a partir de la mucina, la resistencia al gradiente de oxígeno o a las moléculas de defensa, dando lugar a una microbiota propia asociada a la mucosa con gran capacidad de interacción con el hospedador. Mientras que la microbiota asociada a la mucosa ejerce un papel relevante en la modulación del sistema inmune, la microbiota del lumen interviene en los procesos de digestión de nutrientes (Van den Abbeele, Verstraete, & Possemiers, 2011).

Las interacciones microbiota-hospedador en la mucosa del intestino desempeñan un papel trascendental en el desarrollo y regulación del sistema inmune humoral y celular (Brandtzaeg, 2009). Las células endocrinas, caliciformes y los enterocitos del epitelio intestinal expresan una gama de receptores de reconocimiento de patrones (PRR) para detectar la presencia de microbios y son capaces de generar inmunoglobulinas, citoquinas, quimiocinas, responsables del desencadenamiento de la respuesta inmune. Las células del epitelio presentan en su superficie receptores que reconocen patrones moleculares conservados de las distintas especies bacterianas, los llamados receptores Toll-like (TLR) y los receptores tipo dominio de

oligomerización unidos a nucleótidos (NLR) que juegan un papel esencial en el reconocimiento de patógenos y en el mantenimiento de la función protectora del epitelio. Además, las células intestinales juegan un papel esencial en la configuración del tono inmunosupresor de la mucosa, para evitar una reacción exagerada frente a antígenos luminales inofensivos (Wells et al., 2011). La adaptación de las bacterias a la mucosa intestinal juega un rol importante como es el caso de *Bacteroides thetaiotamicron* es capaz de digerir glicanos derivados del moco cuando no quedan polisacáridos del residuo alimenticio, y *Akkermansia muciniphila*, que crece exclusivamente en el moco y se asocia a mucosa intestinal sana (Png et al., 2010).

#### **2.1.4. Métodos de estudio de la microbiota intestinal.**

La relevancia de la microbiota intestinal en la patogénesis de las enfermedades de mayor prevalencia como la obesidad, la diabetes tipo 2, síndrome metabólico y las enfermedades cardiovasculares ha permitido un entendimiento claro de estas enfermedades a través de los estudios de genes, proteínas y metabolitos, permitiendo el desarrollo de la genómica, proteómica, metabolómica, con la finalidad de hacer un diagnóstico temprano o prevenir el desarrollo de una enfermedad.

El conocimiento sobre las “ómicas” aplicadas a la clínica podría personalizar a la medicina, donde cada individuo llevará un tratamiento para una determinada enfermedad acorde a su información genética y a su entorno ambiental. Hasta los años noventa, el conocimiento de la microbiota intestinal estuvo limitado al cultivo de microorganismos pero en estos últimos veinte años el estudio se ha basado en técnicas moleculares basadas en el análisis de la secuenciación del gen de la subunidad del RNA ribosomal (RNAr 16S).

La PCR cuantitativa (qPCR), se basa en la detección de la fluorescencia en cada uno de los ciclos de la PCR en tiempo real, lo que permite la

cuantificación de los productos amplificados (Carey, Kirk, Ojha, & Kostrzynska, 2007).

La Hibridación in situ Fluorescente (FISH), se basa en utilización de sondas fluorescentes que hibridan con secuencias complementarias en el ARNr 16S. Una vez realizada la hibridación, la cual puede realizarse directamente sobre la muestra de materia fecal, el conteo de las células fluorescentes se lleva a cabo en un microscopio de epifluorescencia, actualmente esta técnica se complementa con citometría de flujo, permitiendo análisis más rápidos y sensibles de la microbiota intestinal (Zwiehner et al., 2009).

La Microarreglos de DNA, que permite caracterizar la abundancia y diversidad de la microbiota. El microarreglo para el tracto intestinal humano (HITchip), fue diseñado para identificar 1,400 especies usando 4,809 sondas traslapadas. Estos microarreglos han sido utilizados principalmente para comparar la microbiota intestinal entre diferentes poblaciones (Rajilić-Stojanović et al., 2009).

La secuenciación directa del ARNr 16S, considerada como el *estándar de oro* para la identificación taxonómica a nivel de especie. Los mejores resultados de esta estrategia se obtienen de la secuenciación completa del gen ARNr 16S (constituido por >1500 pares de bases (Breitbart et al., 2003). La Metagenómica genera información tanto de la diversidad genética como de las propiedades funcionales y metabólicas presentes en una comunidad bacteriana, permiten identificar qué rutas metabólicas se ven afectadas y cómo la microbiota puede contribuir al mecanismo de los estados de salud y enfermedad, proveen información basada en el contenido de microorganismos (vivos o muertos), por lo que otras metodologías como la metatranscriptómica y la metaproteómica son necesarias para disponer de un análisis funcional más profundo (E. G. Zoetendal, Rajilić-Stojanović, & De Vos, 2008).

### 2.1.5. Microbiota intestinal e inflamación

La microbiota intestinal participa directamente en el mantenimiento de la homeostasis del hospedador. Compete por los nutrientes y receptores y desplaza a los patógenos, produce factores antimicrobianos, regula la tasa de recambio de los enterocitos, promueve el desarrollo y diferenciación de las células epiteliales, fortifica la barrera intestinal y mantiene el buen funcionamiento de la inmunidad de la mucosa intestinal mediante la inducción de la secreción de IgA. Desde el ángulo del hospedador, la unión física, química e inmunitaria de la barrera intestinal son pilares en el mantenimiento del número y localización de la población microbianas y de los efectos beneficiosos en la salud (Yu, 2012).

Las células del epitelio intestinal están expuestas constantemente a estrés citotóxico, metabólico y patogénico que puede ocasionar la disrupción (rotura) en la barrera intestinal, el paso de componentes microbianos y la respuesta proinflamatoria correspondiente. Los receptores de reconocimiento de patrones tipo-toll (TLRs, por sus siglas en inglés) y receptores tipo NOD (NLRs, por sus siglas en inglés) que pueden activar el sistema inmune mediante una respuesta inflamatoria. La mayor parte de los TLRs son receptores de la membrana celular mientras que los NOD (NOD1 y NOD2) son citoplasmáticos (Harris, Kassis, Major, & Chieh, 2012).

Estudios experimentales demostraron en ratas y humanos que la alimentación rica en grasa aumentaba los lipopolisacáridos plasmáticos de dos a tres veces más de lo normal y concomitantemente disminuía la población de las *Bifidobacterium spp*, ocasionando la pérdida de la integridad de la barrera intestinal. El incremento de los lipopolisacáridos a la vez estaba relacionado con un aumento de peso corporal, aumento del tejido adiposo, incremento de la glucemia en ayunas, resistencia a insulina y un estado inflamatorio crónico con niveles elevados de Factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), Interleucinas (IL-1 e IL-6) y el Inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) (Cani et al., 2007a), (Shen J, Obin M, & Zhao L, 2013), (R. Ley, Turbaugh, Klein, & Gordon, 2006).

El factor de necrosis tumoral alfa liberado a la sangre, parece estar asociado con la fosforilación y activación de la señal intracelular JNK (c-Jun-terminal Kinase) en el músculo esquelético. Inhibe la transducción de la señal en respuesta a la insulina mediante la fosforilación de la serina del Receptor de sustrato de insulina (IRS-1). Esto conduce a una hiperinsulinemia y a un excesivo almacenamiento de lípidos en el tejido adiposo y hepático (fig.5) (Cani et al., 2007a) (Shen J et al., 2013), mientras que los ratones TLR2 KO entran en contacto con gérmenes y reciben una dieta rica en grasas, presentan un fenotipo típico de síndrome metabólico ya que la microbiota intestinal es capaz de revertir el efecto protector de la falta de este receptor. Se observa además un incremento de hasta tres veces la proporción de Firmicutes y una ligera elevación de los Bacteroidetes comparados con ratones 'wild-type'. Estos cambios en la microbiota están asociados a un incremento en la absorción de lipopolisacaridos (Caricilli et al., 2011). El déficit del receptor TLR-5 KO en las ratas e experimentación también demostraban los factores de riesgo del síndrome metabólico.(Caricilli et al., 2011).

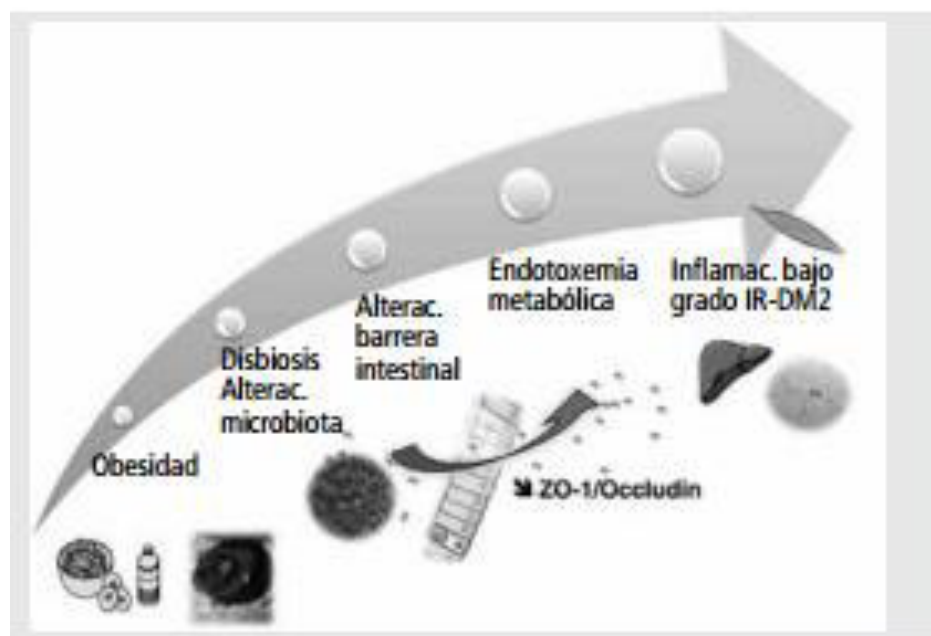


Figura 5. La dieta rica en grasas aumenta la cantidad de bacterias con lipopolisacaridos. La endotoxemia sería el link entre la dieta y la enfermedad metabólica. Adaptado de Cani et al., 2007a

Los receptores intracelulares de peptidoglicano bacteriano NOD1 reconoce principalmente fragmentos de peptidoglicano que contengan meso ácido diaminopimérico (meso-DAP) que está representado ampliamente en bacterias gram-negativas y algunas gram-positivas. NOD2 reconoce monosacáridos como el muramil dipéptido (MDP) que se encuentra también en los dos grupos de bacteria (Schertzer et al., 2011) mostraron que, después de una dieta alta en grasas, los ratones deficientes en NOD1/2-/- presentaban mayor sensibilidad a insulina, tenían reducida la acumulación de lípidos y mantenían un estado inflamatorio más bajo en el tejido adiposo y hepático que los controles. . Para demostrar si los NOD eran responsables, en parte, del desarrollo de resistencia a insulina, utilizaron derivados del PGN específicos de NOD1 y NOD2. Los resultados mostraron que una exposición a meso-DAP producía una activación aguda del receptor e inducía resistencia a la insulina vía NOD2 (Schertzer et al., 2011), (Zhou, Zhou, Li, & Song, 2012)

#### **2.1.6. Metabolitos bacterianos y Síndrome Metabólico.**

Los ácidos grasos de cadena corta, tales como butirato, propionato y acetato son los principales productos del metabolismo fermentativo bacteriano. Además de ser una fuente de energía para las células intestinales, funcionan como ligandos para al menos dos receptores: receptor G acoplado a la proteína 41 (GPR41) y el receptor G acoplado a la proteína 43 (GPR43) denominados también, receptor de ácidos grasos libres (Fatty Free Acid) FFA3, FFA2, respectivamente (Tamrakar et al., 2010), (Ge et al., 2008). Investigaciones nuevas demuestran que la expresión de receptor de ácidos grasos libres 2 (GPR-43) y receptor de ácidos grasos libres 3 (GPR-41) está aumentada en las células L enteroendocrinas y que receptor de ácidos grasos libres 2 media la secreción de GLP-1 vía ácidos grasos de cadena corta en cultivos en laboratorio (Ge et al., 2008). Con frecuencia la dislipemia es un factor asociado a la obesidad y la diabetes, estos mismos estudios se llevaron a cabo en ratones obesos confirmando que la activación del receptor de

ácidos grasos libres 2 por el acetato inhibe la lipólisis y disminuye la concentración plasmática de ácidos grasos libres (Ge et al., 2008) (fig. 6)

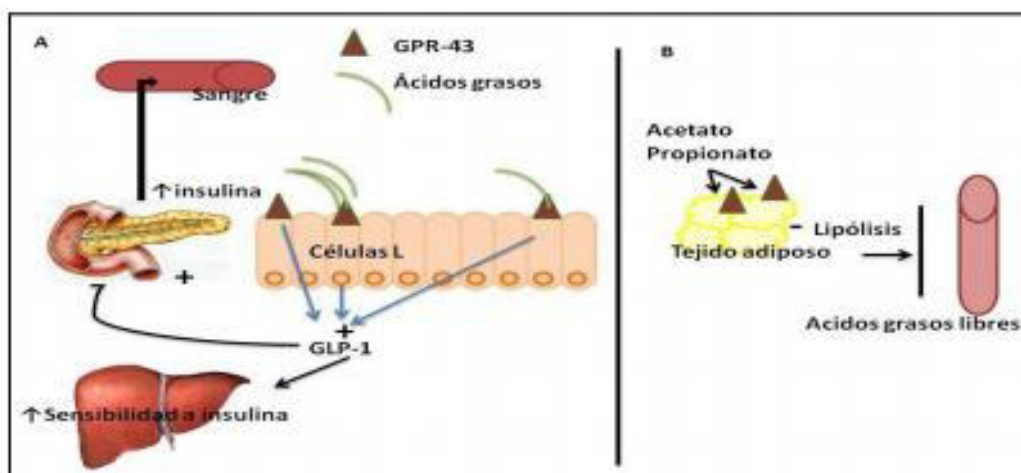


Figura 6. Liberación de GLP-1 en las células L enteroendocrinas mediada por AGCC. Fuente: Ulven et al. (35) y Ge et al. (36).

El receptor de ácidos grasos libres 3 se expresa en varios tejidos incluyendo páncreas, células del sistema inmune, bazo y tejido adiposo. Investigaciones realizadas en tejido adiposo humano con técnicas inmunohistoquímicas, revelaron que hay una gran expresión de este receptor en el tejido adiposo blanco de humanos. Los ácidos grasos de cadena corta estimulan la liberación de leptina vía activación receptor de ácidos grasos libres 3 tanto en tejido adiposo humano como de ratón. Últimos estudios demuestran que tanto el propionato como el butirato incrementan la expresión del gen de la leptina (Harris et al., 2012). Bäckhed et al., encontraron que sus ratones que han crecido libres de gérmenes hasta la edad adulta y que en ese momento se les inoculaba microbiota de ratones normales tenían incrementados los niveles de glucosa, insulina y leptina; también había un incremento de la densidad de los capilares intestinales y cambios en la expresión del metabolismo lipídico como la sobreexpresión de genes relacionados con la lipogénesis (Bäckhed et al., 2004). Los ratones que habían crecido libres de gérmenes y fueron inoculados después microbiota de ratones normales, presentaban una menor expresión del factor adiposo inducido

por el ayuno (FIAT por sus siglas en inglés) en el epitelio intestinal (Manco, Putignani, & Bottazzo, 2010). (figura 7)

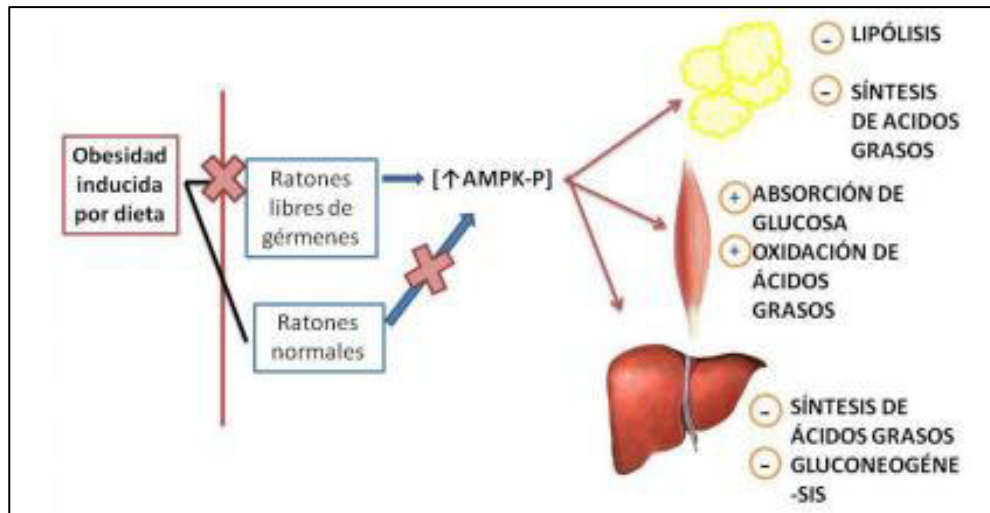


Figura 7. Efectos de la colonización de microbiota normal en ratones CONV-D. Fiaf inhibe la actividad lipoproteína lipasa (LPL) dificultando la incorporación de ácidos grasos a la célula y la acumulación de triglicéridos en el tejido adiposo. Por lo tanto, al aumentar la actividad de la LPL tiene lugar un mayor almacenamiento de triglicéridos en los adipocitos. Fiaf: factor adiposo inducido por el ayuno. TGL: triglicéridos. LPL: lipoproteína lipasa. L

Fuente: Fuente: Adaptado de Bäckhed et al., 2004

La proteína quinasa (K) activada por el adenin monofosfato (AMPK, por sus siglas en inglés) se ha visto que también juega un papel importante en el metabolismo lipídico. Los ratones libres de gérmenes (Bäckhed et al., 2004) son resistentes a la obesidad inducida por dieta y expresan gran cantidad de la proteína quinasa activada por el adenin monofosfato fosforilada en el músculo esquelético e hígado. La proteína quinasa activada por el adenin monofosfato fosforilada regula positivamente la oxidación de ácidos grasos y la absorción de glucosa en el músculo e inhibe la síntesis de ácidos grasos y la gluconeogénesis en el hígado. En el tejido adiposo, la la proteína quinasa activada por el adenin monofosfato fosforilada inhibe la síntesis de ácidos grasos y la lipólisis. Por lo tanto, la proteína quinasa activada por el adenin monofosfato fosforilada, juega un papel importante en el mantenimiento del peso corporal y en prevenir el efecto tóxico de los lípidos (Manco et al., 2010) (fig. 8).





**Figura 8.** Efecto de la proteína quinasa activada por el adenin monofosfato en el mantenimiento de peso corporal y metabolismo lipídico.

Fente: Bäckhed et al., 2004.

### 2.1.7 *Akkermansia muciniphila*.

#### Antecedentes de la *Akkermansia muciniphila*

La *Akkermansia muciniphila*, es considerada como un microbio beneficioso de la próxima generación (Cani & de Vos, 2017b), lleva su nombre *Akkermansia* en reconocimiento al microbiólogo holandés Antoon Akkermans, por su gran aporte a la ecología microbiana. Fue aislada por primera vez por el equipo de profesor Willim de Vos en el 2004 (Derrien et al., 2004). Es una de las especies más abundantes en la microbiota intestinal humana, se encuentra del 0,5 % al 5% del total de bacterias, ha sido aislada y caracterizada por Muriel Derrien en el 2004 (Cani & de Vos, 2017b), (Collado et al., 2007).

Taxonomicamente la *Akkermansia muciniphila* pertenece al dominio *Bacteria*, phylum: *Verrucomicrobia*, clase: *Verrucomicrobiae*, Orden: *Verrucomicrobiales*, familia: *Verrucomicrobiaceae*, género: *Akkermansia*, Especie: *Akkermansia muciniphila*, tensión Muc<sup>T</sup> de *Akkermansia muciniphila* es el único representante humano cultivado y depositado del género *Akkermansia* (Derrien et al., 2004).

Entre las propiedades del tipo de cepa de *Akkermansia muciniphila*, la cepa Muc<sup>T</sup>, ha aislado en condiciones anaeróbicas estrictas de una muestra fecal de un adulto sano utilizando mucina purificada como única fuente de carbono, nitrógeno y energía. Es un quimioorganótrofo (organismo que obtiene su energía de reacciones de oxidorreducción y utiliza sustratos orgánicos) obligado que crece de manera óptima a 37 °C en condiciones anaeróbicas preferentemente en el moco como sustrato, lo que produce tiempos de duplicación de aproximadamente 1 h. El moco es degradado por un gran conjunto de enzimas mucolíticas secretadas y sus componentes principales de azúcar, incluyendo N-acetil galactosamina y N-acetilglucosamina, se convierten en propionato y acetato como los principales productos finales (Derrien et al., 2004).

Se ha determinado también que el genoma completo de 2 664 102 pb de *Akkermansia muciniphila* Muc<sup>T</sup> codifica un gran secretoma (conjunto de moléculas que secreta una célula, incluyendo metabolitos, microRNAs y proteínas) que incluía más del 25% de todas las proteínas predichas, de las cuales se predijo que 61 estarían involucradas en la mucina (van Passel et al., 2011). La disponibilidad del genoma de la cepa Muc<sup>T</sup> ha incitado a varios estudios sobre su evolución, distribución y función. El análisis del *metaproteoma* (estudios de los proteomas derivados de todo un conjunto de organismos de un mismo ecosistema) demostrando que *Akkermansia muciniphila* es altamente activa en un sujeto que tiene un alto nivel (12%) de *Akkermansia* descubriendo un conjunto de cientos de proteínas, algunas de las cuales están presentes en la capa externa de la membrana, incluida una proteína de 33 kD que sintetiza parcialmente los efectos positivos de *Akkermansia muciniphila* en un modelo preclínico (Belzer & De Vos, 2012) (Ottman et al., 2016), (Plovier et al., 2017).

En lo referente a la filogenia (relación de parentesco entre especies o taxones en general) la comparación con genomas de otras Verrucomicrobia (tamaños de 2,2 a 8,2 Mb) reveló que *Akkermansia muciniphila* Muc<sup>T</sup> comparte muy poca similitud. El análisis detallado de

los conjuntos de datos metagenómicos humanos propuso la presencia de otros genomas de *Akkermansia* que tienen una identidad de nucleótidos promedio inferior al 88% con el genoma de *Akkermansia muciniphila*, lo que sugiere la existencia de otras especies humanas (van Passel et al., 2011). Sin embargo, no se puede descartar el montaje incorrecto de lecturas cortas, errores de secuencia y co-ocurrencia de múltiples cepas en un solo tema. La presencia universal de una sola especie con una variación genómica limitada en una variedad de mamíferos demuestra un alto nivel de adaptación especializada al entorno de la mucosa y es indicativa de una simbiosis conservada entre *A. muciniphila* y sus hospedadores (Belzer & De Vos, 2012).

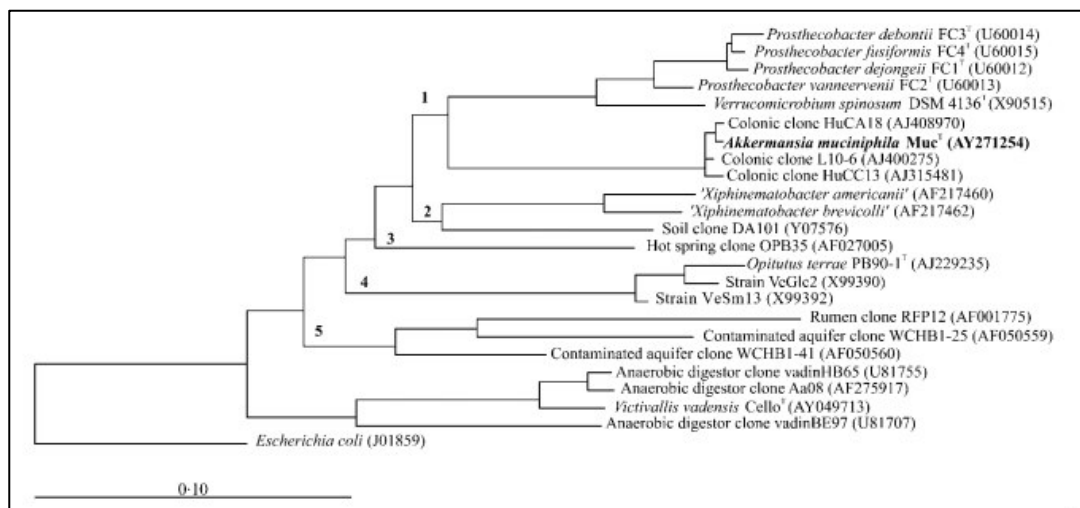


Figura 9. Phylogenetic tree showing the position of strain MucT among selected clones or strains belonging to the division Verrucomicrobia. The tree, which was rooted using *Escherichia coli* as the outgroup, was generated by the neighbour-joining method. The numbers before the interior branch points indicate the five major lineages within the division Verrucomicrobia as proposed by Hugenholtz et al. (1998). Bar, 10 % sequence divergence.

Fuente: (Derrien et al., 2004).

Entre las características importantes de la *Akkermansia muciniphila* se destaca la degradación de la mucina a oligosacáridos y ácidos grasos de cadena corta, pero a la vez promueve su síntesis, lo cual parece ser crucial para mantener la integridad de la capa de moco intestinal y su adecuada permeabilidad. Esta glicoproteína es muy abundante en el

colon y puede representar aproximadamente la mitad del carbono que se encuentra en el colon humano. Ha sido escogida entre los microbios especializados que pueden degradar esta compleja glicoproteína y vivir en simbiosis con el huésped (Derrien et al., 2011).

También es una bacteria gram negativa, estrictamente anaerobia, sus células son de forma ovaladas, no móvil y no forma esporas. El eje largo de células individuales es 0,6-1,0 nm, dependiendo del sustrato utilizado (Derrien et al., 2004). Las células se presentan aisladas, en parejas, en cadenas cortas y en agregados. El crecimiento ocurre a 20-40 ° C y pH 5.5-8.0, con un crecimiento óptimo a 37 ° C y pH 6,5. Su tipo de cepa es muc t (= ATCC BAA-835T = CIP 107961T) (Derrien et al., 2004).

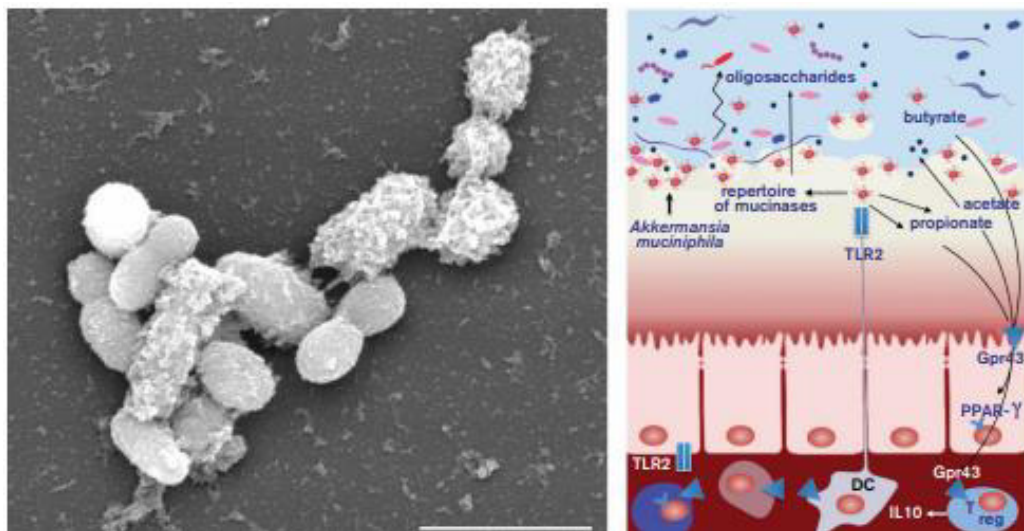


Figura 10. Ultrastructure of *Akkermansia muciniphila* and model for its interaction with the host. Left: scanning microscopy of *A. muciniphila* cells revealing extracellular and outer membrane structures that are the subject of intense research (Ottman N, Huuskonen L, Reunanen J, Boeren S, Klievink J et al. *Front Microbiol* 2016;7:1157). Scale bar, 2  $\mu$ m. Right: model for the interaction of *A. muciniphila* and its host [after (Belzer C, de Vos WM. *ISME J* 2012;6:1449–1458)]. The production of the shortchain fatty acids acetate, propionate and butyrate from mucus by *A. muciniphila* in syntrophy with other intestinal microbes as well as the interaction with the immune system and regulatory T cells have been experimentally verified in in vitro and mouse models (Plovier H, Everard A, Druart C, Depommier C, van Hul M et al. *Nat Med* 2017;23:107–113).

Fuente:(de Vos, 2017).

Son capaces de crecer en mucina gástrica, infusión de cerebro-corazón y en la N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina y glucosa cuando estos tres azúcares están en la presencia de (cada uno a 2 g l-1) peptona, extracto de levadura, casitona y triptona (Derrien et al., 2004). El crecimiento ocurre sin vitaminas. Las colonias aparecen de color blanco con un diámetro de 0,7 mm en un medio de agar blando mucina. El genoma contiene 2,6 mb de información. La cepa tipo es muc t (= ATCC BAA-835T = CIP 107961T), aislado en el tracto intestinal humano. Su contenido de ADN G + C es 47,6 mol% (Derrien et al., 2004).

Normalmente la *Akkermansia muciniphila* se puede encontrar en todos los grupos de edad y su capacidad para crecer en la leche humana apoya su estrecha asociación con el tracto intestinal. Es importante reconocer que la esta bacteria se encuentra disminuida en muestras fecales de adultos que padecen algunas enfermedades, incluida la obesidad, el síndrome metabólico y la diabetes. La evidencia de su impacto en el huésped se originó al analizar la respuesta transcripcional de ratones sin gérmenes *monoasociados* con *Akkermansia muciniphila* que mostraron un aumento de la señalización inmune y metabólica, lo que indica una relación cruzada específica entre el huésped y el microbio (Belzer & De Vos, 2012), (Plovier et al., 2017).

Uno de los descubrimientos importantes de la *Akkermansia muciniphila* ha sido la presencia de una proteína específica de 33kD en la capa externa de la membrana que protegió a los ratones de la obesidad inducida por la dieta, aumentó la función de barrera intestinal y redujo la resistencia a la insulina de igual manera la inflamación intestinal y sistémica (Plovier et al., 2017). Investigaciones recientes en humanos revelaron que la *Akkermansia muciniphila* se une a las células intestinales y aumenta la función de barrera y a nivel dietéticas indican que la *Akkermansia muciniphila* es un indicador metabólico de buena salud (Plovier et al., 2017).

### **Diseño de sonda y Validación de la bacteria *Akkermansia muciniphila*.**

Derrien (2008), describe por primera vez la validación y aplicación de una nueva sonda filogenético, MUC-1437. Sobre la base de esta alineación, se diseñó una sonda oligonucleotídica de ARNr 16S que se dirige a parte de la región hipervariable V9 de la secuencia del gen ARNr 16S de *A. muciniphila*. Se eligió una región correspondiente a los nucleótidos 1437 a 1456 de *Escherichia coli*. La sonda de nuevo diseño se comparó con la base de datos de ARNr de subunidades pequeñas del paquete de software Ribosomal Data Project II mediante la función Probe Match (Cole et al., 2005), y se ejecutó una secuencia de búsqueda de similitud de la base de datos NCBI con BLAST ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)). La sonda fue llamada S-St-Muc-1437-aA-20 (MUC-1437) en base a la nomenclatura de la Base de datos de sondas de oligonucleótidos (Alm, Oerther, Larsen, Stahl, & Raskin, 1996) y tenía la siguiente secuencia: 5'-CCTTGCGGTTGGCTTCAGAT-3'. La secuencia de la sonda oligonucleotídica se ha depositado en la sondaBase (Alexander Loy, Matthias Horn, & Wagner, 2003).

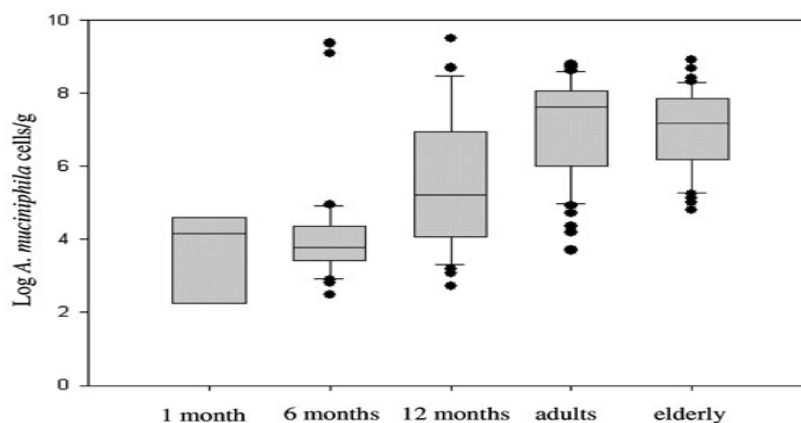
En este estudio, Derrien diseño, validó y utilizó una sonda específica dirigida a la secuencia del gen 16S rRNA de *Akkermansia muciniphila* en muestras fecales de adultos y bebés sanos para determinar la prevalencia y la proporción de esta nueva bacteria degradadora de la mucina mediante hibridación in situ fluorescente (FISH) combinada con citometría de flujo. (Derrien et al., 2008).

Los datos demostraron que la *Akkermansia muciniphila*, crece en el moco del tracto intestinal se coloniza a edad temprana de la vida y en el plazo de 1 año alcanza el nivel observado en adultos sanos, lo que representa aproximadamente un 1 a un 3% del total de la microbiota. La abundancia de *Akkermansia muciniphila* en el intestino humano ofrece nuevas perspectivas para investigar aún más su papel en la salud y la enfermedad en relación con la degradación de la mucina (Derrien et al., 2008).

### Cuantificación de *Akkermansia muciniphila* en heces.

Collao, determinó la cuantificación de *Akkermansia muciniphila* en muestras de heces frescas de 76 personas de las cuales: 50 fueron bebés finlandeses de 6 y 12 meses de edad (25 mujeres y 25 hombres); 13 adultos holandeses sanos (8 mujeres y 5 hombres; las edades, de 26 a 40 años) y 13 adultos finlandeses (todas mujeres; las edades, de 26 a 34 años). Estos voluntarios no fueron sometidos a ninguna prueba de alimentación, dieta específica, o tratamiento con antibióticos en el año anterior. Las muestras fueron procesadas inmediatamente después de la recolección, y las muestras fijadas se hibridaron en 20% (vol / vol) de tampón de formamida. La prueba estadística T Student sirvió para el análisis estadístico. El porcentaje de *Akkermansia muciniphila* en las 13 muestras de individuos holandeses fue del 92%, solo un voluntario no presentó la bacteria. El nivel de *Akkermansia muciniphila* células osciló entre el límite de detección ( $<0,1\%$ ) y  $3,08\%$  de las células totales y fecales no difirió significativamente para los individuos masculinos y femeninos. Las diferencias entre los individuos holandeses y finlandeses no fueron significativas. Las heces del total de 50 bebés de 6 y 12 meses de edad, fueron utilizados para cuantificar *Akkermansia muciniphila* por FISH-citometría de flujo utilizando MUC-1437. La concentración de *Akkermansia muciniphila* aumentó significativamente entre los 6 y 12 meses ( $p < 0,001$ ). Estos datos indican que *Akkermansia muciniphila* coloniza el tracto intestinal temprano en la vida y que el plazo de 1 año el nivel está cerca del nivel observado en adultos (Collado et al., 2007).

A. *muciniphila* levels in human fecal samples as determined by real-time PCR over a life span.



**Figura 11.** A. muciniphila levels in human fecal samples as determined by real-time PCR over a life span. Data represent the positive samples. The line in the box represents the median (50th percentile), with the lower line the 25% border (25th percentile) and the upper line the 75% border (75th percentile). The end of the upper vertical line represents the maximum data value, outliers not considered. The end of the lower vertical line represents the lowest value, outliers not considered. The separate dots indicate outliers. Fuente: (Collado et al., 2007).

Desde hace 14 años que se aisló a la *Akkermansia muciniphila* se ha realizado numerosas investigaciones para entender la fisiología, genómica y ecología del microbio y su relación con las enfermedades metabólicas como la obesidad, la diabetes tipo 2 y síndrome metabólico entre otras múltiples patologías (Everard et al., 2013), (Liou et al., 2013), (Karlsson et al., 2012) (Karlsson et al., 2012), (Roopchand et al., 2015). Su impacto en el peso corporal y la salud, han desmostado que su relación es inversamente proporcional es decir a mayor *Akkermansia muciniphila* menor peso corporal y viciversa, estas investigaciones en animales y humanos deben ser confirmados y abiertos (Belzer & De Vos, 2012).

Actualmente, se está llevando a cabo un ensayo de seguridad y detección de dosis en humanos para proporcionar relaciones causales y proponer a la *Akkermansia muciniphila* como una bacteria terapéutica de próxima generación con un amplio espectro de aplicaciones (Plovier et al., 2017).

### ***Akkermansia muciniphila* contra el síndrome metabólico.**

La alimentación y los malos hábitos de vida han ocasionado la obesidad, (Collaborators, 2017) uno, de los componentes del SM, que tiene un alto coste socioeconómico y se ha constituido en un problema de salud pública en el siglo XXI. Afecta cada vez a mayor número de personas y desde edades tempranas.

En la lucha contra la obesidad, el síndrome metabólico y la diabetes tipo 2 se vienen realizando numerosas investigaciones basadas en estudios experimentales en animales y humanos, interviniendo en la microbiota



intestinal, entre ellas la *Akkermansia muciniphila* como una esperanza para revertir la endotoxemia inducida por el aumento de la permeabilidad intestinal a lipopolisacáridos que acarrea estas patologías (Everard et al., 2013).

Las investigaciones realizadas en humanos han demostrado que en los sujetos obesos o con sobrepeso que presentan una mayor cantidad fecal de *Akkermansia muciniphila* a nivel basal, tienen mejores parámetros cardiometabólicos, especialmente de glicemia, triglicéridos y distribución de la grasa corporal, en comparación a los obesos que exhiben una menor abundancia, concluyendo que hay una diferencia significativa el hecho de tener un incremento de *Akkermansia muciniphila* en relación a los de menor porcentaje (Dao et al., 2016).

Anhe *et al.*, (2013) demostraron que el aumento de la *Akkermansia muciniphila* está relacionado con la protección de las características del síndrome metabólico al administrar Arándano americano (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) sustancia rica en polifenoles en animales alimentados con una dieta rica de lipopolisacáridos aumento esta bacteria mucina dependiente, la misma que tuvo efectos sobre la menor producción hepática de glucosa, triglicéridos y estrés oxidativo<sup>31</sup> corroborando las investigaciones de que con su acción no invierte completamente la obesidad, pero sí tiene lugar una fuerte disminución de la masa grasa corporal y obtención de niveles más bajos de resistencia a la insulina, síntoma específico de la del Síndrome metabólico y la diabetes tipo 2 (Anhê et al., 2015).

Por otro lado, otros estudios realizados por Hill (2010) demostraron que existe una relación directa entre la bacteria *Akkermansia muciniphila* y la mejora del metabolismo de grasas, mediante el aumento del espesor de la capa protectora de mucílago del intestino, además de activar el procesamiento de grasas en otras partes del cuerpo. Cani refiere que al momento centra sus investigaciones desde un par de años en conocer el

rol de la *Akkermansia muciniphila* y las funciones del sistema inmune innato y el sistema endocannabinoide (Hill & Artis, 2010).

Schneebergeek, *et al* (2015) demostraron que la abundancia de los taxones específicos, tales como *Bifidobacterium spp.* y *Akkermansia muciniphila*, fueron fuertemente asociados con los marcadores de metabolismo de los lípidos y se asocia negativamente con la inflamación en el tejido adiposo, el aumento de la glucosa, leptina, triglicéridos e insulina. En este estudio que había una rápida disminución *Akkermansia muciniphila* durante dieta rica en grasa y el envejecimiento, nuestros datos refuerzan el impacto beneficioso putativo de esta bacteria en el metabolismo y la necesidad de investigar su papel en el hombre en el desarrollo de trastornos metabólicos asociados con la dieta rica en grasas y el envejecimiento.

### **Mecanismo de acción de la *Akkermansia muciniphila***

Los mecanismos beneficiosos para la salud que desencadenan la *Akkermansia muciniphila* se conocen solo parcialmente y parecen ser múltiples, siendo mediadas principalmente por un incremento en la producción de moco intestinal lo que llama la atención, dado que normalmente degrada mucina y la síntesis de varios endocannabinoides intestinales que controlan la inflamación, la secreción de enterohormonas y la permeabilidad intestinal (Alhouayek & Muccioli, 2012), (Patrice D. Cani, Everard, & Duparc, 2013) (tabla 2). Algunos de estos endocannabinoides, como el 2-oleoilglicerol (2-OG) estimulan la liberación del péptido similar al glucagón 1 y 2 (*glucagon-like peptide*, GLP-1, GLP-2) de las células L, mientras que el 2-araquidonoilglicerol (2-AG) disminuye la endotoxemia metabólica y la inflamación (Alhouayek & Muccioli, 2012), (Hansen et al., 2011). Estas enterohormonas están comprometidas en la regulación de la homeostasis de la glucosa y metabolismo energético (GLP-1) y en la regulación de la permeabilidad intestinal (GLP-2) (Hansen et al., 2011).

**Tabla 2. Mecanismos de acción de la Bacteria *Akkermansia muciniphila* y sus efectos en la salud del hospedador.**

<b>Mecanismo de Acción de la Bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i></b>	<b>Efecto</b>
Producción de moco intestinal	↑
Número de células caliciformes	↑
Número y capacidad secretoria de las células L	↑
Péptido similar al glucagón – 1 (GLP-1)	↑
Endotoxemia metabólica	↓
Crecimiento de bacterias “Positivas”	↑
Endocannabinoides intestinales	↑
Inflamación	↓
Infiltración de macrófagos en tejido adiposo	↓
Sensibilidad a la insulina	↑
Grasa corporal	↓
Pardeamiento	↑

Por su parte, un adecuado grosor de la capa de moco intestinal es imprescindible para el buen funcionamiento de la barrera intestinal y por ende de la permeabilidad intestinal, la cual a su vez es clave en la mantención de la salud, impidiendo el paso de bacterias y derivados de ellas a la circulación sanguínea, como son los lipopolisacáridos (Cani et al., 2007a). Estos son componentes de la pared bacteriana de los Gram negativos, que producen continuamente por lisis (ruptura) bacteriana y pasan a la circulación, con capacidad de activar el complejo CD14/TLR-4 ubicado en la membrana plasmática de múltiples células, como: adipocitarias, musculares, hepáticas y especialmente inmunes. Ello, desencadena una respuesta inflamatoria (Kawai & Akira, 2010), (Sasai & Yamamoto, 2013), predisponiendo al desarrollo de diversas enfermedades incluyendo: diabetes tipo 2, dislipidemia, cánceres, enfermedades cardiovasculares, patologías neurodegenerativas y esteatohepatitis no alcohólica (Cani et al., 2007a), (Cani et al., 2008).

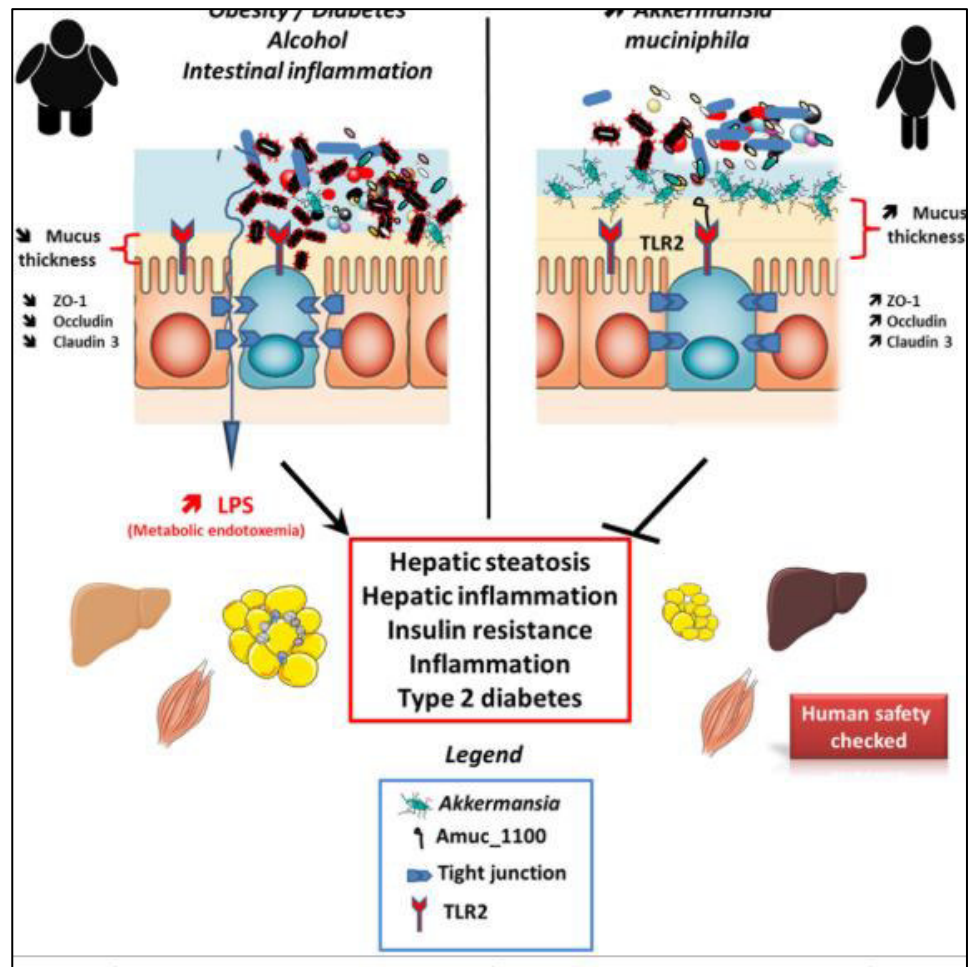


Figura 12. Efectos de *A. muciniphila* y productos derivados sobre el metabolismo del huésped. Se ha encontrado que *A. muciniphila* es menor en varias afecciones, como la obesidad, la diabetes, la inflamación intestinal, las enfermedades hepáticas o el consumo crónico de alcohol. Esto se asocia con una función alterada de la barrera intestinal que conduce a un aumento de los niveles de LPS en plasma y, finalmente, desencadena una inflamación de bajo grado y trastornos metabólicos. *A. muciniphila* vivo o pasteurizado, así como Amuc\_1100, se ha demostrado que restaura la función de la barrera intestinal al actuar sobre TLR2 y restaurar la expresión de la unión estrecha adecuada. Todos estos resultados se asocian con un aumento del espesor del moco y una mejoría de los trastornos metabólicos. Vale la pena señalar que una investigación exploratoria en humanos ha demostrado que *A. muciniphila* es aparentemente segura.

Fuente: (Patrice D. Cani & de Vos, 2017b).

## 2.2. Formulación del problema.

¿Cuál es la relación de la bacteria *Akkermansia muciniphila* con el Síndrome Metabólico en los trabajadores del Hospital “Dr. Teodoro

Maldonado Carbo” que asistan al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016?

### **2.3. Hipótesis**

Existe una relación entre la bacteria *Akermansia muciniphila* como factor protector frente al Síndrome Metabólico en los trabajadores del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistan al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016

### **2.4. Objetivos de la investigación.**

#### **2.4.1. Objetivo General**

Establecer si existe una relación entre la presencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* con el síndrome metabólico en los trabajadores del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistan al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

#### **2.4.2. Objetivos específicos**

1. Determinar la prevalencia de síndrome metabólico en los trabajadores de planta del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistan al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

2. Determinar la prevalencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* en heces en los trabajadores de planta del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistan al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

3. Determinar la relación de la bacteria *Akkermansia muciniphila* con el síndrome metabólico en los trabajadores de planta del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistan al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

4. Determinar el grado de riesgo entre la bacteria *Akkermansia muciniphila* con el síndrome metabólico en los trabajadores de planta del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistan al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

## **2.5. Justificación de la investigación**

### **2.5.1. Justificación práctica e importancia del estudio.**

Dentro de las prioridades de investigaciones para cumplir con la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible de la OMS se tiene como meta que todos los gobiernos a través de las políticas de estado inviertan en prevención a fin de disminuir en un tercio las muertes prematuras por enfermedades no trasmisibles, entre ellas el Síndrome metabólico (OMS, 2018).

Esta investigación contribuirá a incrementar el campo de conocimiento científico, por ser la primera investigación que aborde el tema de la prevalencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* en el Ecuador, como un posible factor en la prevención del Síndrome metabólico en respuesta al eje temático 1 del Plan de Desarrollo toda una Vida 2017 – 2021, en el que “garantiza una vida digna con iguales oportunidades para todas las personas” y el Objetivo 1: “Garantizar una vida digna con iguales oportunidades para todas las personas (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo - SENPLADES., 2017, pág. 53)

Esta investigación tiene el claro propósito, la determinación la prevalencia de Síndrome metabólico como un factor predisponente de diabetes tipo 2 y medir el impacto de la *A muciniphila*, como biomarcado pronóstico y terapéuticos como alternativas de los nuevos tratamientos.

En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2011 – 2013, realizada por el Ministerio de Salud Pública (MSP) del Ecuador determinaron que la prevalencia del Síndrome metabólico es del 32%, en personas 10 a 59 años en todas las provincias del Ecuador (Freire et al., 2014),

personas que corresponden a edad productivas y es interés del Ministerio trabajar en prevención para fortalecer la atención primaria de salud y disminuir la morbilidad de las enfermedades no transmisibles.

Dentro de las prioridades de investigación en salud 2013 – 2017, establecidas por el Ministerio de Salud del Ecuador a través de la Coordinación General de Desarrollo Estratégico y la Dirección de Inteligencia de la Salud, se encuentran las intervenciones de reducción de riesgo para la diabetes y Síndrome metabólico y las alternativas a tratamiento (Organización Panamericana de Salud, 2016)

El prometedor beneficio de la microbiota intestinal en la regulación de los tres grandes problemas de la salud pública: Obesidad, Diabetes tipo 2 y Síndrome Metabólico ha hecho que en este proyecto se pretenda relacionar la presencia de la *Akkermansia muciniphila* en los trabajadores con Síndrome Metabólico que asisten al control periódico de salud y determinar su significancia como factor protector para el Síndrome metabólico.

### **2.5.2. Justificación legal**

La constitución de la república del Ecuador en el artículo 66 establece “el derecho a una vida digna que asegure la salud, alimentación y nutrición, agua potable, vivienda, saneamiento ambiental, educación, trabajo, empleo, descanso y ocio, cultura física, vestido, seguridad social y otros servicios sociales necesarios en el ítem 2 (pág.31).

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo y diseño de investigación

#### 3.1.1. Localización y temporalización:

Esta investigación se realizó en los trabajadores de planta del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) de Guayaquil – Ecuador que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

#### 3.1.2. Tipo de estudio y nivel de estudio.

Observacional, analítico, de caso-control.

#### 3.1.3. Diseño de estudio:

Cuantitativo. Porque usando magnitudes numéricas a través de la estadística se trató los datos, permitiendo conocer la causa y efecto de las cosas.

Epidemiológico. Porque nos permitió describir la distribución del síndrome metabólico y *Akkermansia muciniphila* en los trabajadores de planta del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) de Guayaquil – Ecuador que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016, y nos permitió el descubrimiento y caracterización de la relación entre el síndrome metabólico y la *Akkermansia muciniphila*.



### **3.2. Universo de estudio**

El universo de estudio estuvo constituida por 1079 trabajadores de planta del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social. Guayaquil – Ecuador, que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

#### **3.2.1. Unidad de análisis**

La unidad de análisis fueron los trabajadores de planta de 21 – 65 años del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social. Guayaquil – Ecuador, que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.

#### **3.2.2. Muestra o tamaño muestral**

Se estudió 230 trabajadores de planta que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión. El grupo caso estuvo conformado por aquellos trabajadores que presentaron síndrome metabólico de acuerdo a los criterios del Harmonizing the Metabolic Syndrome- circulation del 2009 (Alberti et al., 2009) para obtener el diagnóstico de síndrome metabólico pre-mórbido se excluyeron los criterios alternativos (condición de ser diabéticos y con enfermedades cardiovasculares y/o tratamiento). La proporción de los grupos se hizo manteniendo la relación de 1 a 2 entre los casos y controles, se tomó en consideración la edad, el sexo y el índice de masa corporal.

**Tabla 3. Criterios clínicos para el diagnóstico del Síndrome Metabólico.**

Medida	Puntos de corte categóricos
Circunferencia de cintura*	Definición específica de población y país. Latinoamérica 94 cm. para los hombres y 88 cm. para las mujeres (Rosas Guzmán J., González Chávez A., Aschner P., 2010).
Los triglicéridos elevados (el tratamiento farmacológico para los triglicéridos elevados es un indicador alternativo** )	≥150 mg/dL (1,7 mmol/L)
Reducción del colesterol de lipoproteína de alta densidad - HDL-c (el tratamiento farmacológico para el colesterol de lipoproteínas de alta densidad reducido es un indicador alternativo**)	< de 40 mg/dL (1,0 mmol/L) en hombres; <50 mg/dL (1,3 mmol/L) en mujeres.
Presión arterial elevada (el tratamiento farmacológico antihipertensivo en un paciente con antecedentes de hipertensión es un indicador alternativo)	Sistólica ≥130 y diastólica ≥ 85 mmHg
Elevada glucosa en ayunas*** (el tratamiento farmacológico de glucosa elevada es un indicador alternativo)	≥ 100 mg/dL
HDL-C indica colesterol de lipoproteínas de alta densidad.	
*Se recomienda utilizar los puntos de corte la Federación Internacional de diabetes para los no europeos y los puntos de corte de la Federación Internacional de Diabetes o Asociación Americana del Corazón/ Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre utilizados para las personas de origen europeo hasta que haya más datos disponibles.	
**Los medicamentos que se usan con mayor frecuencia para reducir los niveles de triglicéridos y el colesterol de lipoproteína de alta densidad son los fibratos y el ácido nicotínico. Se puede presumir que un paciente que toma 1 de estos medicamentos tiene triglicéridos altos y el colesterol de lipoproteínas de alta densidad bajo. La alta dosis de ácidos grasos ω-3 supone un alto nivel de triglicéridos.	
***La mayoría de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 tendrán el síndrome metabólico según los criterios propuestos.	

Fuente: (Alberti et al., 2009) Harmonizing the Metabolic Syndrome.

### **3.3. Criterios de inclusión y exclusión de la muestra.**

#### **3.3.1. Criterios de inclusión para casos**

- Trabajadores de ambos sexos
- Trabajadores con edad comprendida entre 21 - 65 años.
- Trabajadores con Síndrome Metabólico pre mórbido.
- Análisis de heces positivo.
- Que firmaron el consentimiento informado.

#### **3.3.2. Criterios de inclusión para controles**

- Trabajadores de ambos sexos
- Trabajadores con edad comprendida entre 21 - 65 años.
- Trabajadores sin Síndrome Metabólico pre-mórbido
- Análisis de heces positivo.
- Que firmen el consentimiento informado.

#### **3.3.3. Criterios de exclusión para casos y controles:**

##### **Criterios de exclusión de la muestra**

- Trabajadores con síndrome metabólico mórbido
- Hipotiroidismo.
- Embarazadas.
- Síndrome Hepatorrenal
- Que hayan recibido tratamiento de antibióticos 2 meses anterior al examen.
- Paciente con síndrome metabólico mórbido

#### **3.4. Variables de estudio:**

3.4.1. Variable Independiente: Bacteria *Akkermansia muciniphila*

3.4.2. Variable dependiente: Síndrome metabólico

3.4.3. Variables intervinientes: Índice de Masa Corporal (IMC), Hábitos nutricionales.

### **3.5. Recolección de muestra y análisis de laboratorio.**

#### **3.5.1. Recolección de muestra**

Para el trabajo de campo se elaboró una ficha de recolección de datos que contiene las variables demográficas (nombre, edad, nivel de instrucción, estado civil, ocupación y lugar de nacimiento), antropométricas (peso, talla, índice de masa corporal), bioquímicas (glicemia, colesterol total, Lipoproteína de alta densidad, Lipoproteína de baja densidad y triglicéridos), hemodinámicas (presión arterial sistólica y diastólica) y de heces para la identificación molecular de la *bacteria Akkermansia muciniphila*.

El diagnóstico de síndrome metabólico pre-mórbido se basó en los criterios descritos en la tabla N°3, que se adjunta en anexo 1.

#### **Recolección de datos para la determinación de prevalencia de síndrome metabólico.**

Para determinar la prevalencia de síndrome metabólico, el trabajador fue citado al control anual de salud, al cual previó a la evaluación clínica se le realizó: toma de medidas antropométricas, toma de presión arterial siguiendo el protocolo de investigación descrito a continuación:

- Toma de medidas antropométricas, al trabajador se lo invitó a ponerse un mandil descartable y se procedió a obtener el peso en kilogramos y la talla en m<sup>2</sup>, se determinó la obesidad mediante el índice de masa corporal (IMC), que se calculó dividiendo los kilogramos de peso por el cuadrado de la estatura en metros (IMC = peso [kg]/ estatura [m<sup>2</sup>]) fórmula según el Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre de los Estados Unidos (NHLBI).
- El perímetro abdominal, se midió en centímetros, con cinta métrica de plástico no extensible y se colocó en el punto X distante entre las últimas costillas y la cresta iliaca superior anterior.
- La toma de presión arterial fue tomada en el brazo izquierdo apoyado en apodadoras, previo reposo de 10 minutos, se tomó una primera vez y luego de 5 minutos la segunda ocasión y luego se registró el

promedio. Se utilizó para el efecto tensiómetro digital profesional, marca Riester validado clínicamente de acuerdo a los estándares de la Sociedad Británica de Hipertensión (BHS) C E 0124 – Art. NI1725 - 145.

- Las pruebas bioquímicas sanguíneas: Glicemia, colesterol total, colesterol HDL y LDL y triglicéridos fueron tomadas en ayunas de 12 horas y fueron procesados en equipo cobas c 702 (Roche) en el laboratorio clínico del Hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo.

### **Identificación molecular de la *bacteria Akkermansia muciniphila* para determinación la prevalencia de identificación molecular de la *bacteria Akkermansia muciniphila***

Para la identificación molecular de la *Akkermansia muciniphila* se recogieron muestras de heces frescas de los trabajadores participantes y se procedió a pesar 200 mg siguiendo el protocolo de investigación en una balanza analítica automatizada marca Lexus con control de calidad ISO 9001.

Se procedió a realizar la extracción de ADN de muestra de heces con el Kit QIAamp® Fast DNA Stool Mini (Cat#51604, Qiagen, Valencia, CA) siguiendo las especificaciones del fabricante.

Posteriormente se procedió a realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a punto final con los cebadores (primers) específicos S-St-Muc-1129-a-a-20 (AM1), con la secuencia 5'CAG CAC GTG AAG GTG GGG AC, y S-St-Muc-1437- a-A-20 (AM2), con la secuencia 5'CCT TGC GGT TGG CTT CAG AT (Collado et al., 2007) las condiciones en el termociclador (Eppendorf, Mastercycler Nexus GSX1-6345, Alemania) para la PCR fueron: 95°C por 5 min, seguidos de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos, 60°C por 40 segundos, 72°C por 30 segundos, y una extensión final a 72°C por 5 minutos.

Los productos de PCR (amplicones) se verificaron por electroforesis en gel de agarosa al 1.5% en solución TAE 1X (Tris base, ácido bórico y EDTA 0.5 M, pH 8.0) a 230 voltios durante 30 minutos en una cámara de

electroforesis de 250 ml de volumen. El gel se reveló utilizando el programa Imager Gel Doc XR (Bio-Rad, Filadelfia, PA), y el tamaño de cada fragmento de ADN se estimó utilizando el marcador de bajo peso molecular de ADN de 100 pares de bases (pb) (cat#15628019, Invitrogen™).

Los amplicones fueron secuenciados por Sanger en un laboratorio externo en Corea del Sur, MacroGen, Inc. Las secuencias de ADN se visualizaron y editaron manualmente en el programa Finch TV versión 1.4.0 (Geospiza Inc.) y se alinearon utilizando el programa MEGA 6 (Tamura et al., 2013) con un nivel mínimo de confianza del 97% para Bacteria *Akkermansia muciniphila* ATCC BAA-835 mediante el algoritmo BLAST de la base de datos pública del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank>).

### **3.6. Procesamiento y análisis de los datos**

Con los datos recolectados se creó una base de datos. Se realizó el control de calidad del registro de datos considerando los objetivos del estudio y la operacionalización de las variables.

#### **3.6.1. Análisis univariado:**

Para el análisis de las variables cualitativas se realizó el cálculo de las frecuencias absolutas (n) y relativas (%). Para el análisis de las variables cuantitativas se estimaron las medidas de tendencia central ( $\bar{x}$ : promedio) y de dispersión (DS: desviación estándar).

#### **3.6.2. Análisis bivariado:**

Para comprobar la asociación de variables cualitativas con el síndrome metabólico o con la *Akkermansia muciniphila* se utilizó la prueba Chi cuadrado de asociación. Mientras que para comprobar la asociación de variables cuantitativas con el síndrome metabólico o con la *Akkermansia muciniphila* se utilizó la prueba t de Student. Para ambas pruebas se utilizó un nivel de significancia del 5%, es decir, se consideró significativo a un valor  $p < 0.05$ .

Para comprobar si la presencia de la *Akkermansia muciniphila* es un factor protector del síndrome metabólico, primero se probó la asociación entre variables mediante la prueba Chi cuadrado. Dado que la prueba resultó no significativa, es decir, no se encontró asociación entre las variables, no se procedió a calcular del odds ratio (OR) para comprobar si era un factor protector puesto que matemáticamente esto no es posible.

### **3.7. Aspectos Éticos y consentimiento Informado.**

- Se solicitó el consentimiento informado a cada trabajador para poder participar en el estudio (anexo 3). Se brindó información general y específica de la investigación y se contestó preguntas que hicieron al respecto. Los resultados de los exámenes fueron entregados dentro del control de su salud en la etapa de informe de resultados conforme a lo acordado en el consentimiento informado.
- La identificación de los participantes se codificó para cumplir con el principio de confiabilidad.
- Las muestras biológicas fueron identificadas con los códigos de los trabajadores en estudio y el procesamiento y análisis fue responsabilidad del laboratorio clínico del HTMC.
- Las muestras de heces para el análisis de la bacteria *Akkermansia muciniphila* fue recogidas y procesadas por la investigadora en el laboratorio de coprología.

## **CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

### **4.1. RESULTADOS**

#### **Característica general de la muestra**

La muestra de estudio estuvo conformada por 230 de ambos sexos entre una edad comprendida de 21 – 65 años, trabajadores del hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016 y cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión. Los resultados se presentan en los siguientes cuadros y gráficos.



**Tabla 4. Características general de la muestra de los trabajadores del hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.**

<b>Características General de la muestra</b>		
	<b><math>\bar{X} \pm DS</math> (Mín. - Máx.)</b>	
<b>Edad</b>	<b><math>42.8 \pm 10.0</math> (21 - 65)</b>	
	<b>N</b>	<b>%</b>
20 a 29 años	21	9.1%
30 a 39 años	69	30.0%
40 a 49 años	75	32.6%
50 a 59 años	59	25.7%
60 a 65 años	6	2.6%
<b>Sexo</b>		
Mujer	140	60.9%
Hombre	90	39.1%
<b>Índice de masa corporal</b>		
Saludable	57	24.8%
Sobrepeso	88	38.3%
Obesidad	85	37.0%
<b>Estado civil</b>		
Casado	117	50.9%
Soltero	59	25.7%
Unión libre	31	13.5%
Divorciado	21	9.1%
Viudo	2	0.9%
<b>Grado de instrucción</b>		
Primaria	12	5.2%
Secundaria	88	38.3%
Superior	130	56.5%
<b>Total</b>	<b>230</b>	<b>100%</b>

Fuente: Base de datos del autor

La tabla 4 muestra que la edad promedio de los trabajadores fue de  $42.8 \pm 10.0$  años, siendo el mayor grupo etario de 30 a 49 años (62.6%), el 60.9% fueron mujeres, el 38.3% y 37.0% con sobrepeso y obesidad, respectivamente, el 50.9% eran casados y el 56.5% tenían estudios superiores.

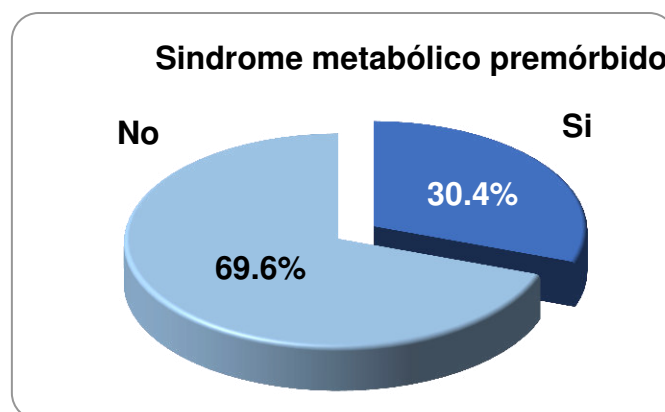
## Resultados de los objetivos específicos

**Tabla 5. Prevalencia del síndrome metabólico premórbido en los trabajadores del hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

Síndrome metabólico premórbido	N	%
Sí	70	30.4%
No	160	69.6%
<b>Total</b>	<b>230</b>	<b>100%</b>

Fuente: Base de datos del autor

La tabla 5 y el gráfico 1 muestran que del 100% (230) de los trabajadores del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016, el 30.4% presentaron síndrome metabólico, mientras que el 69.6% no lo presentaron.



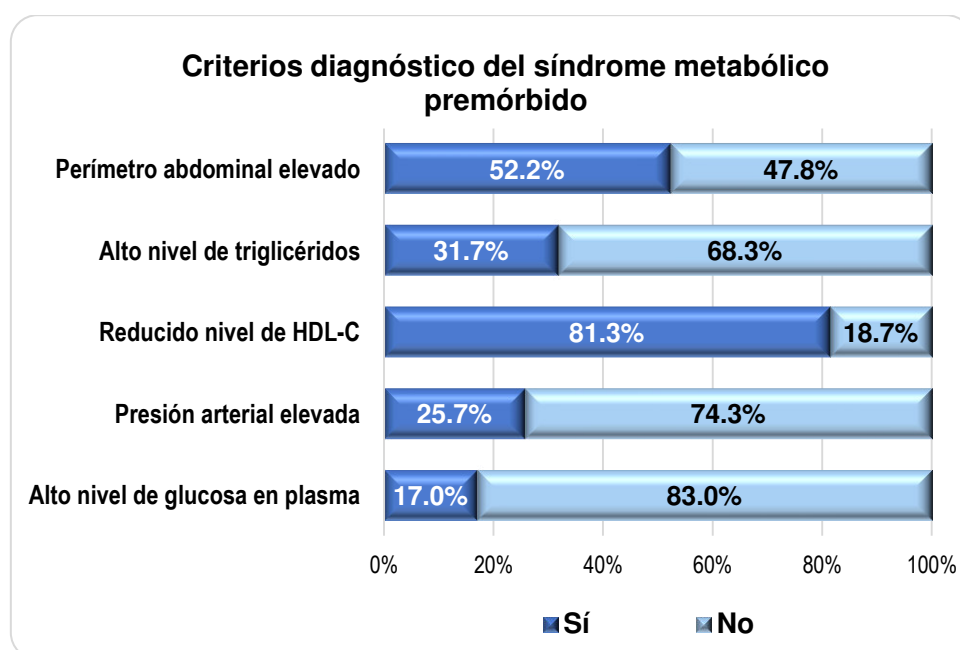
**Gráfico 1. Prevalencia del síndrome metabólico premórbido en los trabajadores del hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.**

**Tabla 6. Criterios diagnósticos del síndrome metabólico premórbido en los trabajadores del hospital Dr. Teodoro Maldonado Carbo que asistieron**

Criterios diagnóstico del síndrome metabólico	Sí		No		Total
	N	%	N	%	
Perímetro abdominal elevado (>94cm hombres y >88cm mujeres)	120	52.2%	110	47.8%	230
Alto nivel de triglicéridos ( $\geq 150$ mg/dL)	73	31.7%	157	68.3%	230
Reducido nivel de HDL-C (< de 40 mg/dL en hombres; <50 mg/dL en mujeres)	187	81.3%	43	18.7%	230
Presión arterial elevada (Sistólica $\geq 130$ y/o diastólica $\geq 85$ mmHg)	59	25.7%	171	74.3%	230
Alto nivel de glucosa en plasma ( $\geq 100$ mg/dL)	39	17.0%	191	83.0%	230

Fuente: Base de datos del autor

La tabla 6 muestra que el 52.2% de los trabajadores presentaron elevado perímetro abdominal, el 31.7% presentó alto nivel de triglicéridos, el 81.3% reducido nivel de HDL-C, el 25.7% presión arterial elevada y el 17% altos niveles de glucosa en plasma, como se muestra también el gráfico 2.



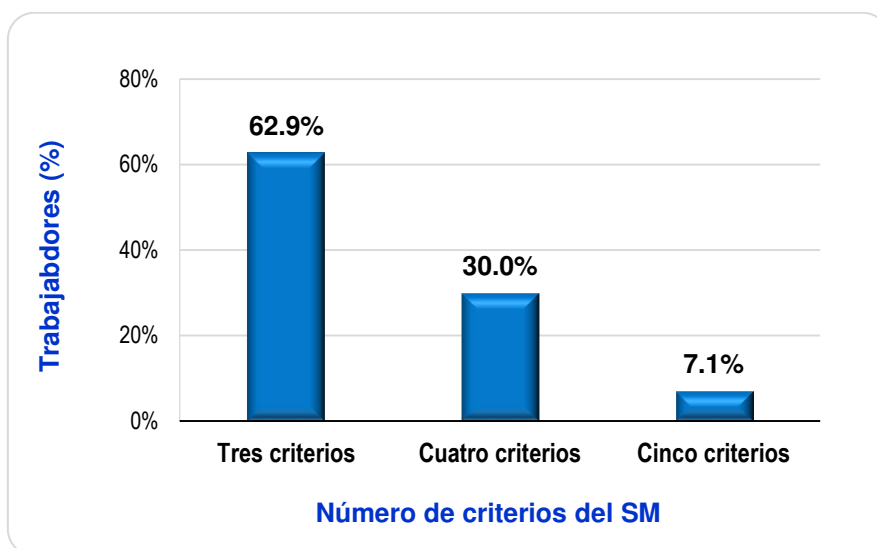
**Gráfico 2. Criterios diagnóstico del síndrome metabólico en los trabajadores del hospital” Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

**Tabla 7. Número de criterios del síndrome metabólico pre-mórbido en los trabajadores del hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

Número de criterios del Síndrome Metabólico pre-mórbido	N	%
Tres criterios	44	62.9%
Cuatro criterios	21	30.0%
Cinco criterios	5	7.1%
<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>100%</b>

Fuente: Base de datos del autor

La tabla 7 y gráfico 3 muestran que, de los 70 trabajadores con síndrome metabólico pre-mórbido, el 62.9% fue determinado por 3 criterios, el 30% por cuatro criterios y el 7.1% por 5 parámetros.



**Gráfico 3. Número de criterios del síndrome metabólico en los trabajadores del hospital” Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

**Tabla 8. Características epidemiológicas según síndrome metabólico pre-mórbido en los trabajadores del hospital” Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

Características epidemiológicas	Síndrome metabólico pre-mórbido				p*
	Sí		No		
	N	%	N	%	
<b>Edad</b>	42,8 ± 9,8		42,8 ± 10,2		0.963**
20 a 29 años	8	11.4%	13	8.1%	
30 a 39 años	20	28.6%	49	30.6%	
40 a 49 años	25	35.7%	50	31.3%	0.796
50 a 59 años	15	21.4%	44	27.5%	
60 a más años	2	2.9%	4	2.5%	
<b>Sexo</b>					
Mujer	31	44.3%	109	68.1%	<0.001
Hombre	39	55.7%	51	31.9%	
<b>Índice de masa corporal</b>					
Saludable	2	2.9%	55	34.4%	<0.001
Sobrepeso	26	37.1%	62	38.8%	
Obesidad	42	60.0%	43	26.9%	
<b>Estado civil</b>					
Soltero	19	27.1%	40	25.0%	0.428
Casado	31	44.3%	86	53.8%	
Viudo	0	0.0%	2	1.3%	
Divorciado	7	10.0%	14	8.8%	
Unión libre	13	18.6%	18	11.3%	
<b>Grado de instrucción</b>					
Primaria	4	5.7%	8	5.0%	0.085
Secundaria	34	48.6%	54	33.8%	
Superior	32	45.7%	98	61.3%	
<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>100%</b>	<b>160</b>	<b>100%</b>	

Fuente: elaboración propia. (\*) Prueba Chi cuadrado. (\*\*) Prueba t de Student

La tabla 8 muestra que, el sexo ( $p < 0.001$ ) y el índice de masa corporal ( $p < 0.001$ ) se relacionan significativamente con la presencia del síndrome metabólico pre-mórbido (Síndrome metabólico). La edad promedio es muy similar en ambos grupos de trabajadores ( $42.77 \pm 9.8$  vs  $42.84 \pm 10.2$  años,  $p = 0.963$ ). La mayoría de los trabajadores con Síndrome metabólico fueron mujeres (44.3%) y sufren de obesidad (60%); mientras que, la mayoría de los

trabajadores sin Síndrome metabólico, también fueron mujeres (68.1%) y con sobrepeso (38.8%).

**Tabla 9. Hábitos saludables asociadas al síndrome metabólico pre-mórbido en los trabajadores del hospital” Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

Hábitos saludables	Síndrome metabólico pre-mórbido				p*
	Sí		No		
	N	%	N	%	
<b>Ejercicio/Actividad física</b>					
No	36	51.4%	92	57.5%	0.394
Actividad física	11	15.7%	19	11.9%	0.426
Ejercicio físico	23	32.9%	49	30.6%	0.737
<b>Ingesta de frutas y legumbres</b>					
No	0	0.0%	4	2.5%	0.182
Sí	70	100.0%	156	97.5%	
<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>100%</b>	<b>160</b>	<b>100%</b>	

Fuente: elaboración propia (\*) Prueba Chi cuadrado / Respuesta múltiple

La tabla 9 muestra que los hábitos saludables no se asociaron al Síndrome metabólico (Síndrome metabólico). La proporción de trabajadores que realizan actividad física, ejercicio físico o tienen la costumbre de ingerir frutas y legumbres fue bastante similar entre los que presentaron y no presentaron Síndrome metabólico.

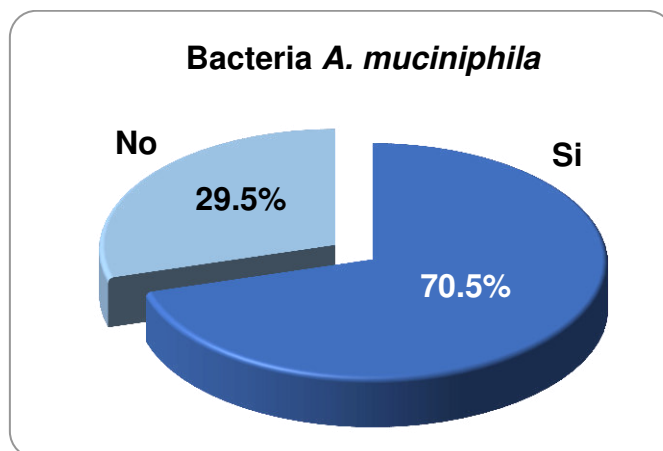
**Tabla 10. Prevalencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* en los trabajadores del hospital” Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

<b>Bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i></b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Sí	161	70.5%
No	69	29.5%
<b>Total</b>	<b>230</b>	<b>100%</b>

Fuente: base de datos del autor

La tabla 10 y el gráfico 4 muestran que del 100% (230) de los trabajadores atendidos en el Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016, el 70,5%

presentaron la bacteria *Akkermansia muciniphila*, mientras que el 29,5% no lo presentaron.



**Gráfico 4. Prevalencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* en los trabajadores del hospital "Dr. Teodoro Maldonado Carbo" que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

**Tabla 11. Características epidemiológicas de la Bacteria *Akkermansia muciniphila* en los trabajadores del hospital” Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

Características epidemiológicas	Bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i>				P
	Sí		No		
	N	%	N	%	
<b>Edad</b>	42.8 ± 10.3		42.8 ± 9.3		0.950**
20 a 29 años	17	9.2%	4	4.9%	0.688*
30 a 39 años	47	24.5%	22	29.3%	
40 a 49 años	50	28.6%	25	36.6%	
50 a 59 años	42	34.2%	17	26.8%	
60 a más años	5	3.6%	1	2.4%	
<b>Sexo</b>					1.000*
Mujer	98	62.8%	42	61.0%	
Hombre	63	37.2%	27	39.0%	
<b>Índice de masa corporal</b>					
Saludable	45	25.5%	12	15.9%	0.144*
Sobrepeso	62	39.8%	26	35.4%	
Obesidad	54	34.7%	31	48.8%	
<b>Estado civil</b>					
Soltero	38	23.5%	21	30.5%	0.745*
Casado	83	51.0%	34	52.4%	
Viudo	1	.5%	1	1.2%	
Divorciado	16	10.7%	5	6.1%	
Unión libre	23	14.3%	8	9.8%	
<b>Grado de instrucción</b>					
Primaria	10	6.1%	2	3.7%	0.484*
Secundaria	63	37.2%	25	35.4%	
Superior	88	56.6%	42	61.0%	
<b>Total</b>	<b>161</b>	<b>100%</b>	<b>69</b>	<b>100%</b>	

Fuente: elaboración propia. (\*) Prueba Chi cuadrado. (\*\*) Prueba t de Student

La tabla 11 muestra que ninguna de las características epidemiológicas se relacionó con la Bacteria *Akkermansia muciniphila* ( $p > 0,05$  en todos los casos). Es decir, la edad, sexo, IMC, estado civil y grado de instrucción fue similar en el grupo de trabajadores que presentaban la bacteria y en quienes no la presentaban.



**Tabla 12. Hábitos saludables asociadas a la bacteria *Akkermansia muciniphila* en los trabajadores del hospital” Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

Hábitos saludables	Bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i>				p*
	Sí		No		
	N	%	N	%	
<b>Ejercicio/Actividad física</b>					
No	91	57.1%	37	52.4%	0.685
Actividad física	20	13.8%	10	15.9%	0.669
Ejercicio físico	50	29.1%	22	31.7%	0.901
<b>Ingesta de frutas y legumbres</b>					
No	4	3.6%	0	1.2%	0.187
Sí	157	96.4%	69	98.8%	
<b>Total</b>	<b>161</b>	<b>100%</b>	<b>69</b>	<b>100%</b>	

Fuente: base de datos de autor (\*) Prueba Chi cuadrado

La tabla 12 muestra que los hábitos saludables no se asociaron a la bacteria *Akkermansia muciniphila*. La proporción de trabajadores que realizan actividad física, ejercicio físico o tienen la costumbre de ingerir frutas y legumbres fue bastante similar entre los que presentaron y no presentaron dicha bacteria.

**Tabla 13. Criterios diagnósticos del síndrome metabólico pre-mórbido asociados a la bacteria *Akkermansia muciniphila* en trabajadores del hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

Criterios diagnóstico del síndrome metabólico pre-mórbido	Bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i>				p *	OR [IC 95%] **
	Sí		No			
	N	%	N	%		
<b>Perímetro abdominal elevado</b>						
Sí	80	49.7%	40	58.0%	0.249	0.716 [0.405 - 1.265]
No	81	50.3%	29	42.0%		
<b>Alto nivel de triglicéridos</b>						
Sí	51	31.7%	22	31.9%	0.975	0.990 [0.541 - 1.815]
No	110	68.3%	47	68.1%		
<b>Reducido nivel de HDL-C</b>						
Sí	131	81.4%	56	81.2%	0.971	1.014 [0.492 - 2.087]
No	30	18.6%	13	18.8%		
<b>Presión arterial elevada</b>						
Sí	36	22.4%	23	33.3%	0.081	0.576 [0.309 - 1.074]
No	125	77.6%	46	66.7%		
<b>Alto nivel de glucosa en plasma</b>						
Sí	30	18.6%	9	13.0%	0.301	1.527 [0.682 - 3.415]
No	131	81.4%	60	87.0%		
<b>Total</b>	<b>161</b>	<b>100%</b>	<b>69</b>	<b>100%</b>		

(\*) Prueba Chi-Cuadrado

(\*\*) Odds Ratio y su intervalo de confianza al 95%.

La tabla 13 muestra que, de los 161 trabajadores que presentaron la bacteria *Akkermansia muciniphila*, el 49.7% presentaron elevado perímetro abdominal, el 31.7% alto nivel de triglicéridos, el 81.4% reducido nivel de HDL-C, el 22.4% elevación de la presión arterial y el 18.6% alto nivel de glucosa en plasma. Por otro lado, de los 69 trabajadores que no presentaron la bacteria *Akkermansia muciniphila*, el 58% presentaron elevado perímetro abdominal, el 31.9% alto nivel de triglicéridos, el 81.2% reducido nivel de HDL-C, el 33.3% elevación de la presión arterial y el 13% alto nivel de glucosa en plasma. Observamos también que, ante los resultados obtenidos para el p-valor, se puede inferir que no existen diferencias significativas entre, tener y no tener la Bacteria *Akkermansia muciniphila* y, el tener o no tener: elevado perímetro abdominal, alto nivel de triglicéridos, reducido nivel de HDL-C, elevada presión arterial, alto

nivel de glucosa en plasma. Si los valores de p resultan no significativos, entonces tenemos que, el OR también nos da como resultado la no existencia de riesgo, para ninguno de los criterios diagnósticos del síndrome metabólico.

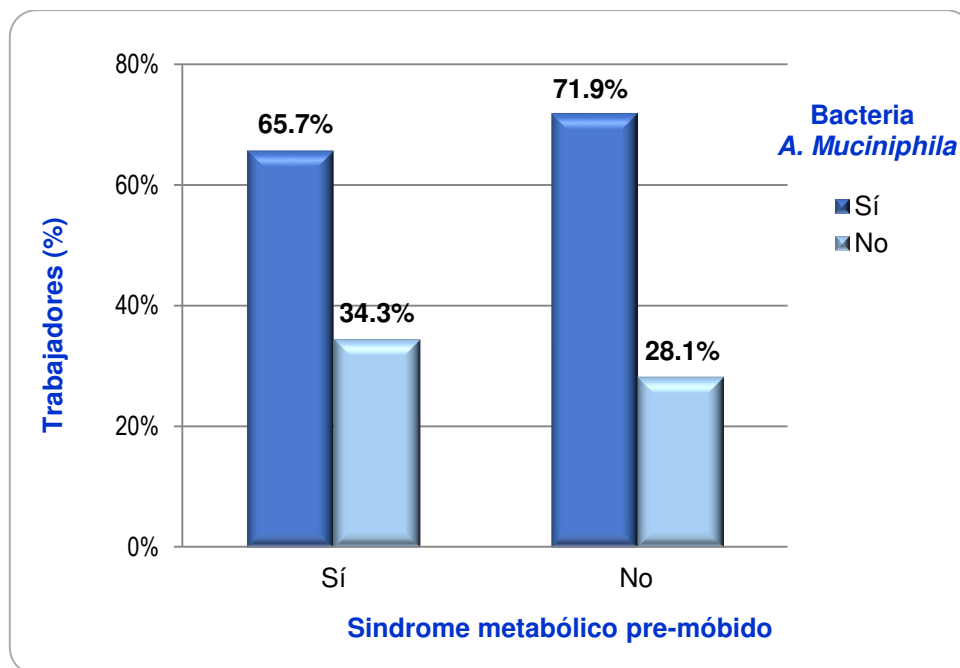
**Tabla 14. Bacteria *Akkermansia muciniphila* como factor protector del síndrome metabólico premórbido en los trabajadores del hospital” Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

Bacteria <i>Akkermansia muciniphila</i>	Síndrome metabólico pre- mórbido				p*	OR**	IC al 95%	
	Sí		No				Inferior	Superior
	N	%	N	%				
Sí	46	65.7%	115	71.9%	0.348	0.750	0.411	1,369
No	24	34.3%	45	28.1%				
<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>100%</b>	<b>160</b>	<b>100%</b>				

(\*) Prueba Chi-Cuadrado

(\*\*) Odds Ratio y su intervalo de confianza al 95%.

La tabla 14 y gráfico 5 muestra que no existe relación significativa ( $p=0.348$ ) entre la presencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* con el síndrome metabólico en trabajadores del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo”; por lo mismo tenemos que, no existe riesgo ante la presencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila*. Por otro lado, descriptivamente podemos afirmar que, el 65.7% de los trabajadores con síndrome metabólico presentaron la bacteria *Akkermansia muciniphila*; esta proporción es similar al 71.9% de los trabajadores sin síndrome metabólico que también presentaron la bacteria.



**Gráfico 5. Relación entre la bacteria *Akkermansia muciniphila* y el síndrome metabólico pre-mórbido en los trabajadores del hospital” Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016**

## 4.2. DISCUSIÓN

Se realizó un estudio prospectivo en el hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” con fines clínicos y epidemiológicos. Se llevó a cabo un estudio microbiológico de las muestras fecales de los 230 trabajadores de dicho nosocomio que asistieron a su control médico anual durante el 15 de febrero al 10 de junio del 2016. De esta forma se determinó la presencia de colonización de *Akkermansia muciniphila* en este grupo de muestras. Para lograr dicho objetivo se utilizó como instrumento una ficha de recolección de datos, la cual fue diseñada por el propio investigador en base al test de Findrisc.

Respecto a las características epidemiológicas de los trabajadores sanitarios, la edad promedio de los mismos fue de 42.8 años, el 60.9% fueron del sexo femenino, el 50.9% tenía estado civil soltero(a) y el 56.5% tenía educación superior. La prevalencia del Síndrome metabólico en los trabajadores del hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” fue de 30.4%.

Estos resultados también evidenciaron que el 37% de los trabajadores fueron obesos. Asimismo, el criterio diagnóstico de Síndrome metabólico más frecuente fue tener un elevado perímetro abdominal (52.2%), mientras que el menos frecuente fueron la presencia de altos niveles de glucosa en plasma (17%).

Solo se encontró asociación significativa ( $p < 0.001$ ) entre el sexo y el IMC del trabajador con la presencia de Síndrome metabólico. No hubo asociación significativa entre la presencia de Síndrome metabólico y el realizar o no hábitos saludables (actividad o ejercicio físico e ingesta de frutas y legumbre).

Al analizar las heces frescas de la muestra, resultó que en el 70.5% de los trabajadores se aisló la bacteria *Akkermansia muciniphila*. Hallazgos similares encontraron Guo et al<sup>15</sup> en la que comparó la presencia de la bacteria de población del sur de China con la europea, encontrando que en los europeos la tasa de colonización para *Akkermansia muciniphila* fue de hasta el 74,70%.

A pesar que la evidencia reciente indica que la microbiota intestinal juega un papel clave en la fisiopatología del Síndrome metabólico, específicamente la presencia y abundancia de colonización de *Akkermansia muciniphila*, en la

presente investigación no evidencio que la presencia de bacteria *Akkermansia muciniphila* se relacionó con el Síndrome metabólico en los trabajadores del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo”. Asimismo, las características epidemiológicas no se asociaron significativamente con la presencia *Akkermansia muciniphila*, ni tampoco el realizar o no hábitos saludables.

Respecto a los criterios diagnósticos de Síndrome metabólico (perímetro abdominal, nivel de triglicéridos, nivel de HDL-C, presión arterial y nivel de glucosa), se observó que no hubo diferencias significativas entre cada uno de ellos y la presencia *Akkermansia muciniphila*. En contraposición, Dao et al<sup>56</sup> encontraron en su estudio que la *Akkermansia muciniphila* se relacionó inversamente con la glucosa en ayunas, la relación cintura-cadera y el diámetro de los adipocitos subcutáneos.

Debido a que estos resultados no son comparables se puede inducir que existen probablemente otros factores demográficos o biológicos que contribuyeron desfavorablemente en el desarrollo de estas asociaciones. Cabe mencionar que en el trabajo de Dao et al<sup>56</sup> la población total de estudio estuvo conformada únicamente por adultos franceses con sobrepeso y obesidad, además que el tamaño de muestra fue más pequeño (n=44).

Por otro lado, gran parte de la evidencia científica que estudia el efecto de la *Akkermansia muciniphila* y los factores involucrados en el Síndrome metabólico se han desarrollado en modelos animales, especialmente ratones.

## CONCLUSIONES

- La bacteria *Akkermansia muciniphila* no se relacionó con el síndrome metabólico en los trabajadores del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016.
- La prevalencia del síndrome metabólico pre-mórbido (SM) fue de 30,4% en los trabajadores sin diabetes, hipertensión arterial ni dislipidemia, pero aumenta al 54,3% si se consideraría a esta población trabajadores del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo”.
- La prevalencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* en las heces de los trabajadores de planta del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” fue de 70,5%.
- No se encontró relación entre la bacteria *Akkermansia muciniphila* con el síndrome metabólico pre-mórbido de los trabajadores del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo”, la proporción de trabajadores que presentaron la bacteria es similar en el grupo caso (69,5% de los trabajadores con Síndrome metabólico) como en el grupo control (71,7% de los trabajadores con Síndrome metabólico).
- La bacteria *Akkermansia muciniphila* no resultó un factor de riesgo ni protector del síndrome metabólico pre-mórbido en los trabajadores de planta del Hospital “Dr. Teodoro Maldonado Carbo” que asistieron al control anual de salud entre el 15 de febrero al 10 de junio del 2016 debido a que no se encontró relación significativa entre ellos.

## RECOMENDACIONES

Son necesarias futuras investigaciones dirigidas a:

- Evidenciar y reforzar el papel beneficioso de la bacteria *Akkermansia muciniphila* para el desarrollo de un adecuado metabolismo en poblaciones de americana latina.
- Específicamente correlacionar de manera sólida la expresión del metabolismo lipídico y los marcadores de inflamación en el tejido adiposo (glucosa, insulina, triglicéridos, leptina) con la presencia y abundancia de *Akkermansia muciniphila*.
- Encontrar también correlaciones solidas entre otros factores clínicos y epidemiológicos que expliquen las diferencias encontradas en otros estudios.



## CAPÍTULO V: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelaal, M., le Roux, C. W., & Docherty, N. G. (2017). Morbidity and mortality associated with obesity. *Annals of Translational Medicine*, 5(7), 161–161. <https://doi.org/10.21037/atm.2017.03.107>
- Alarcón, T., D'Auria, G., Delgado, S., Del Campo, R., & Ferre, M. (2016). *Microbiota: Procedimientos en Microbiología clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* (Vol. 35). <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.05.008>
- Alberti, K. G. M. M., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., ... Smith, S. C. (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International . *Circulation*, 120(16), 1640–1645. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>
- Alexander Loy, A., Matthias Horn, M., & Wagner, M. (2003). probeBase: an online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Nucleic Acids Research*, 31(1), 514–516. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg015>
- Alhouayek, M., & Muccioli, G. G. (2012). The endocannabinoid system in inflammatory bowel diseases: From

- pathophysiology to therapeutic opportunity. *Trends in Molecular Medicine*, 18(10), 615–625. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.07.009>
- Alm, E. W., Oerther, D. B., Larsen, N., Stahl, D. A., & Raskin, L. (1996). The Oligonucleotide Probe Database. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(10), 3557–3559. Retrieved from <http://www.cme.msu.edu/OPD>.
- Alvarez- Borroto, R., Ruano- Nieto, A. L., Calle- Miñaca, R., & Lara- Fiallos, M. V. (2015). Extraction and determination of inulin from common autochthonous garlic ( *Allium sativum* ). *Revista Cubana de Quimica*, 27(2), 131–146.
- Anhê, F. F., Roy, D., Pilon, G., Dudonné, S., Matamoros, S., Varin, T. V., ... Marette, A. (2015). 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*, 64(6), 872–883. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307142>
- Arora, T., & Bäckhed, F. (2016). The gut microbiota and metabolic disease: current understanding and future perspectives. *Journal of Internal Medicine*. <https://doi.org/10.1111/joim.12508>
- Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., ... Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(44), 15718–15723. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407076101>
- Bäckhed, F., Fraser, C. M., Ringel, Y., Sanders, M. E., Sartor, R. B., Sherman, P. M., ... Finlay, B. B. (2012). Defining a healthy

- human gut microbiome: Current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host and Microbe*, *12*(5), 611–622. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.10.012>
- Bäckhed, F., Hao, D., Wang, T., Hooper, L. V, Koh, Y. G., Andras, N., ... Jaffrey. (2004). The gut microbiota as an enviromental factor that regulates fat storage, *101*(44), 15718–15723. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407076101>
- Bäckhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2005). Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine - supplemental materials. *Science*, *307*(5717), 1915–1920. <https://doi.org/10.1126/science.1104816>
- Balda, M., & Matter, K. (2000). Transmembrane proteins of tight junctions. *Seminars in CELL & DEVELOPMENTAL BIOLOGY*, *11*(4), 281–289. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.08.017>
- Balda, M. S., Whitney, J. A., & Flores, C. (1996). Functional Dissociation of Paracellular Permeability and Transepithelial Electrical Resistance and Disruption of the Apical-Basolateral Intramembrane Diffusion Barrier by Expression of a Mutant Tight Junction Membrane Protein, *134*(4), 1031–1049.
- Barbosa, T. M., & Levy, S. B. (2000). The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. *Drug Resistance Updates*, *3*(5), 303–311. <https://doi.org/10.1054/drup.2000.0167>
- Bazzoni, G. (2003). The JAM family of junctional adhesion molecules. *Current Opinion in Cell Biology*, *15*(5), 525–530. [https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(03\)00104-2](https://doi.org/10.1016/S0955-0674(03)00104-2)
- Bazzoni, G., Martínez-Estrada, O. M., Orsenigo, F., Cordenonsi, M., Citi, S., & Dejana, E. (2000). Interaction of junctional

- adhesion molecule with the tight junction components ZO-1, cingulin, and occludin. *Journal of Biological Chemistry*, 275(27), 20520–20526. <https://doi.org/10.1074/jbc.M905251199>
- Belzer, C., & De Vos, W. M. (2012). Microbes inside from diversity to function: The case of Akkermansia. *ISME Journal*, 6(8), 1449–1458. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.6>
- Bessac, A., Cani, P. D., Meunier, E., DIETRICH, G., & Knauf, C. (2018). Inflammation and gut-brain axis during type 2 diabetes: Focus on the crosstalk between intestinal immune cells and enteric nervous system. *Frontiers in Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2018.00725>
- Bonder, M. J., Kurilshikov, A., Tigchelaar, E. F., Mujagic, Z., Imhann, F., Vila, A. V., ... Zhernakova, A. (2016). The effect of host genetics on the gut microbiome. *Nature Genetics*, 48(11), 1407–1412. <https://doi.org/10.1038/ng.3663>
- Brandtzaeg, P. (2009). Mucosal immunity: Induction, dissemination, and effector functions. *Scandinavian Journal of Immunology*, 70(6), 505–515. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2009.02319.x>
- Brandtzaeg, P., Halstensen, T. S., Kett, K., Krajči, P., Kvale, D., Rognum, T. O., ... Sollid, L. M. (1989). Immunobiology and immunopathology of human gut mucosa: Humoral immunity and intraepithelial lymphocytes. *Gastroenterology*, 97(6), 1562–1584. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(89\)90406-X](https://doi.org/10.1016/0016-5085(89)90406-X)
- Breitbart, M., Hewson, I., Felts, B., Mahaffy, J., Nulton, J., Salamon, P., & Rohwer, F. (2003). Metagenomic Analyses of an Uncultured Viral Community from Human Feces. *Journal of Bacteriology*, 185(20), 6220–6223.

<https://doi.org/10.1128/JB.185.20.6220>

- Bücker, R., Schumann, M., Amasheh, S., & Schulzke, J. D. (2010). Claudins in Intestinal Function and Disease. *Current Topics in Membranes*, 65(C), 195–227. [https://doi.org/10.1016/S1063-5823\(10\)65009-0](https://doi.org/10.1016/S1063-5823(10)65009-0)
- Cani, P., & Delzenne, N. M. (2007). Gut microflora as a target for energy and metabolic homeostasis. *Mayo Clinic Proceedings*, 89(1), 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.10.011>
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., ... Bonner-weir, S. (2007a). Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes*, 56(July), 1761–1772. <https://doi.org/10.2337/db06-1491.P.D.C>
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., ... Bonner-weir, S. (2007b). Original Article. *Diabetes*, 56(July), 1761–1772. <https://doi.org/10.2337/db06-1491.P.D.C>
- Cani, P. D., Bibiloni, R., Knauf, C., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M., & Burcelin, R. (2008). Changes in gut microbiota control metabolic diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*, 57(6), 1470–1481. <https://doi.org/10.2337/db07-1403.Additional>
- Cani, P. D., & de Vos, W. M. (2017a). Next-generation beneficial microbes: The case of *Akkermansia muciniphila*. *Frontiers in Microbiology*, 8(SEP), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01765>
- Cani, P. D., & de Vos, W. M. (2017b). Next-generation beneficial microbes: The case of *Akkermansia muciniphila*. *Frontiers in Microbiology*, 8(SEP), 1–8.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01765>

- Cani, P. D., & Delzenne, N. M. (2009). Interplay between obesity and associated metabolic disorders: new insights into the gut microbiota. *Current Opinion in Pharmacology*, 9(6), 737–743. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2009.06.016>
- Cani, P. D., & Delzenne, N. M. (2010). Involvement of the gut microbiota in the development of low grade inflammation associated with obesity: Focus on this neglected partner. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-9-98>
- Cani, P. D., & Delzenne, N. M. (2011). Lipids and postprandial inflammation: Impact of the gut microbiota [Lipides et inflammation postprandiale: Impact du microbiote intestinal]. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 46(5), 230–233. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2011.07.004>
- Cani, P. D., & Delzenne, N. M. (2011). The gut microbiome as therapeutic target. *Pharmacology and Therapeutics*, 130(2), 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.01.012>
- Cani, P. D., Everard, A., & Duparc, T. (2013). Gut microbiota, enteroendocrine functions and metabolism. *Current Opinion in Pharmacology*, 13(6), 935–940. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2013.09.008>
- Cani, P. D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Knauf, C., Burcelin, R. G., Tuohy, K. M., ... Delzenne, N. M. (2007). Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*, 50(11), 2374–2383. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0791-0>
- Cani, P. D., Osto, M., Geurts, L., & Everard, A. (2012). Involvement

- of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes*, 3(4), 37–41. <https://doi.org/10.4161/gmic.19625>
- Cani, P. D., Plovier, H., Van Hul, M., Geurts, L., Delzenne, N. M., Druart, C., & Everard, A. (2016). Endocannabinoids-at the crossroads between the gut microbiota and host metabolism. *Nature Reviews Endocrinology*, 12(3), 133–143. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.211>
- Carey, C. M., Kirk, J. L., Ojha, S., & Kostrzynska, M. (2007). Current and future uses of real-time polymerase chain reaction and microarrays in the study of intestinal microbiota, and probiotic use and effectiveness. *Canadian Journal of Microbiology*, 53(5), 537–550. <https://doi.org/10.1139/W07-039>
- Caricilli, A. M., Picardi, P. K., de Abreu, L. L., Ueno, M., Prada, P. O., Ropelle, E. R., ... Saad, M. J. A. (2011). Gut microbiota is a key modulator of insulin resistance in TLR 2 knockout mice. *PLoS Biology*, 9(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001212>
- Carmody, R. N., Gerber, G. K., Luevano, J. M., Gatti, D. M., Somes, L., Svenson, K. L., & Turnbaugh, P. J. (2015). Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *Cell Host and Microbe*, 17(1), 72–84. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.11.010>
- Castillo Hernández, J. L. & C. (2017). Síndrome metabólico, un problema de salud pública con diferentes definiciones y criterios. *Revista Médica de La Universidad Veracruzana*, 17(2), 7–24.
- Chan, M. (2014). Global report on diabetes. *World Health*

- Organization*, 58(12), 1–88.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.03728-14>
- Cho, I., & Blaser, M. J. (2012). The human microbiome: At the interface of health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 13(4), 260–270. <https://doi.org/10.1038/nrg3182>
- Cohen, C. J., Shieh, J. T. C., Pickles, R. J., Okegawa, T., Hsieh, J.-T., & Bergelson, J. M. (2001). The coxsackievirus and adenovirus receptor is a transmembrane component of the tight junction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(26), 15191–15196.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.261452898>
- Cole, J. R., Chai, B., Farris, R. J., Wang, Q., Kulam, S. A., McGarrell, D. M., ... Tiedje, J. M. (2005). The Ribosomal Database Project (RDP-II): Sequences and tools for high-throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Research*, 33(DATABASE ISS.), 294–296.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gki038>
- Collaborators, T. G. 2015 O. (2017). Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *New England Journal of Medicine*, 377(1), 13–27.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1614362>
- Collado, M. C., Derrien, M., Isolauri, E., De Vos, W. M., & Salminen, S. (2007). Intestinal integrity and *Akkermansia muciniphila*, a mucin-degrading member of the intestinal microbiota present in infants, adults, and the elderly. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(23), 7767–7770.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.01477-07>
- Cummings, D., & Schwartz, M. (2003). Genetics and the pathophysiology of obesity. *Annurev.Med*, 54(1), 453–471.



<https://doi.org/10.1203/01.PDR.0000059753.61905.58>

- Damci, T., Nuhoglu, I., Devranoglu, G., Osar, Z., Demir, M., & Ilkova, H. (2003). Increased intestinal permeability as a cause of fluctuating postprandial blood glucose levels in Type I diabetic patients. *European Journal of Clinical Investigation*, *33*(5), 397–401. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.2003.01161.x>
- Dao, M. C., Everard, A., Aron-Wisnewsky, J., Sokolovska, N., Prifti, E., Verger, E. O., ... Lepage, P. (2016). Akkermansia muciniphila and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: Relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut*, *65*(3), 426–436. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308778>
- David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., ... Turnbaugh, P. J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, *505*(7484), 559–563. <https://doi.org/10.1038/nature12820>
- De La Cuesta-Zuluaga, J., Mueller, N. T., Corrales-Agudelo, V., Velásquez-Mejía, E. P., Carmona, J. A., Abad, J. M., & Escobar, J. S. (2017). Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-degrading akkermansia muciniphila and several short-chain fatty acid-producing microbiota in the gut. *Diabetes Care*, *40*(1), 54–62. <https://doi.org/10.2337/dc16-1324>
- de Vos, W. M. (2017). Microbe Profile: Akkermansia muciniphila: a conserved intestinal symbiont that acts as the gatekeeper of our mucosa. *Microbiology* *2017*;163:646–648, *163*, 646–648. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000444>

- Derrien, M., Collado, M. C., Ben-Amor, K., Salminen, S., & De Vos, W. M. (2008). The mucin degrader *Akkermansia muciniphila* is an abundant resident of the human intestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*, *74*(5), 1646–1648. <https://doi.org/10.1128/AEM.01226-07>
- Derrien, M., Van Baarlen, P., Hooiveld, G., Norin, E., Müller, M., & de Vos, W. M. (2011). Modulation of mucosal immune response, tolerance, and proliferation in mice colonized by the mucin-degrader *Akkermansia muciniphila*. *Frontiers in Microbiology*, *2*(AUG), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00166>
- Derrien, M., Vaughan, E. E., Plugge, C. M., & de Vos, W. M. (2004). *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *54*(5), 1469–1476. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02873-0>
- Dewulf, E. M., Cani, P. D., Neyrinck, A. M., Possemiers, S., Holle, A. Van, Muccioli, G. G., ... Delzenne, N. M. (2011). Inulin-type fructans with prebiotic properties counteract GPR43 overexpression and PPAR $\gamma$ -related adipogenesis in the white adipose tissue of high-fat diet-fed mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *22*(8), 712–722. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.05.009>
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., & Sargent, M. (2005). Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science*, *308* (5728), 1635–1638. <https://doi.org/10.1126/Science.11110591> originally published online April 14, 2005
- Eckel, R. H., Grundy, S. M., & Zimmet, P. Z. (2005). The metabolic

- syndrome. *Lancet*, 365, 1415–1428.  
<https://doi.org/10.1002/9781444347319>
- Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., Ouwerkerk, J. P., Druart, C., Bindels, L. B., & Guiot, Y. (2013). Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1219451110>
- Fanning, A. S., & Anderson, J. M. (1999). PDZ domains: Fundamental building blocks in the organization of protein complexes at the plasma membrane. *Journal of Clinical Investigation*, 103(6), 767–772.  
<https://doi.org/10.1172/JCI6509>
- Fanning, A. S., Ma, T. Y., & Anderson, J. M. (2002). Isolation and functional characterization of the actin binding region in the tight junction protein ZO-1. *The FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 16(13), 1835–1837.  
<https://doi.org/10.1096/fj.02-0121fje>
- Farquhar, M., & Palade, G. (1963). JUNCTIONAL COMPLEXES IN VARIOUS EPITHELIA. *The Journal of Cell of Biology*, 17(2), 375–412. <https://doi.org/10.1083/jcb.17.2.375>
- Finegold, M., Attebery, R., & Sutter, V. L. (1974). Effect of diet on human comparison of Japanese fecal and flora: American. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 27(12)(March), 1456–1469. <https://doi.org/doi.org/101093/ajcn/27.12.1456>
- Freire, W., Ramírez-Luzuriaga, M. J., Philippe, B., Mendieta, M. J., Jaramillo, K. S., Romero, N., ... Monge, R. (2014). [ *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición ENSANUT ECU - 2012* ] (Vol. 1). Quito - Ecuador. Retrieved from

[http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_Sociales/ENSANUT/MSP\\_ENSANUT-ECU\\_06-10-2014.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_Sociales/ENSANUT/MSP_ENSANUT-ECU_06-10-2014.pdf)

- Fujio-Vejar, S., Vasquez, Y., Morales, P., Magne, F., Vera-Wolf, P., Ugalde, J. A., ... Gotteland, M. (2017). The gut microbiota of healthy Chilean subjects reveals a high abundance of the phylum Verrucomicrobia. *Frontiers in Microbiology*, 8(JUN), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01221>
- Furuse, M., Fujita, K., Hiiiragi, T., Fujimoto, K., & Tsukita, S. (1998). Claudin-1 and -2: Novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *Journal of Cell Biology*, 141(7), 1539–1550. <https://doi.org/10.1083/jcb.141.7.1539>
- Ge, H., Li, X., Weiszmann, J., Wang, P., Baribault, H., Chen, J. L., ... Li, Y. (2008). Activation of G protein-coupled receptor 43 in adipocytes leads to inhibition of lipolysis and suppression of plasma free fatty acids. *Endocrinology*, 149(9), 4519–4526. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0059>
- Gotteland, M. (2013). El papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la obesidad y de la diabetes de tipo-2. *Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes*, 6(4), 155–162. <https://doi.org/10.1002/oby.20466>
- Guo, X., Zhang, J., Wu, F., Zhang, M., Yi, M., & Peng, Y. (2016). Different subtype strains of Akkermansia muciniphila abundantly colonize in southern China. *Journal of Applied Microbiology*, 120(2), 452–459. <https://doi.org/10.1111/jam.13022>
- Hansen, K. B., Rosenkilde, M. M., Knop, F. K., Wellner, N., Diep, T. A., Rehfeld, J. F., ... Hansen, H. S. (2011). 2-Oleoyl glycerol

- is a GPR119 agonist and signals GLP-1 release in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(9), 1409–1417. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-0647>
- Harris, K., Kassis, A., Major, G., & Chieh, C. J. (2012). Is the Gut Microbiota a New Factor Contributing to Obesity and Its Metabolic Disorders?. *Journal of Obesity*, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2012/879151>
- Hayashi, H., Sakamoto, M., & Benno, Y. (2002). Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based methods. *Microbiology and Immunology*, 46(8), 535–548. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2002.tb02731.x>
- Hill, D. A., & Artis, D. (2010). Intestinal Bacteria and the Regulation of Immune Cell Homeostasis. *Annual Review of Immunology*. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-030409-101330>
- Hossain, P., Kavar, B., & El Nahas, M. (2007). Obesity and Diabetes in the Developing World — A Growing Challenge. *New England Journal of Medicine*, 356(3), 213–215. <https://doi.org/10.1056/NEJMp068177>
- IDF. (2017). *Eighth edition 2017*.
- Ikenouchi, J., Furuse, M., Furuse, K., Sasaki, H., Tsukita, S., & Tsukita, S. (2005). Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. *Journal of Cell Biology*, 171(6), 939–945. <https://doi.org/10.1083/jcb.200510043>
- Kalliomäki, Marko, Collado, M. C., Salminen, S., & Isolauri, E. (2008). Early differences in fecal microbiota composition in children may, (1), 534–538.
- Karlsson, C. L. J., Önnarfält, J., Xu, J., Molin, G., Ahrné, S., & Thorngren-Jerneck, K. (2012). The microbiota of the gut in

- preschool children with normal and excessive body weight. *Obesity*, 20(11), 2257–2261. <https://doi.org/10.1038/oby.2012.110>
- Kawai, T., & Akira, S. (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on toll-like receptors. *Nature Immunology*, 11(5), 373–384. <https://doi.org/10.1038/ni.1863>
- Kawior, I., Katz, M., Cappelletti, A., Ackermann, M., Álvarez, M., Anger, V., ... Giannini, M. (2014). Microbiota Intestinal-Huésped: ¿Nexo Salud–Enfermedad? Host-Gut Microbiota: Health-Disease Nexus? *Actualización En Nutrición*, 15(2), 24–32.
- Khanna, S., & Tosh, P. K. (2014). A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clinic Proceedings*, 89(1), 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.10.011>
- Korecka, A., & Arulampalam, V. (2012). The gut microbiome: Scourge, sentinel or spectator? *Journal of Oral Microbiology*, 4(2012), 1–15. <https://doi.org/10.3402/jom.v4i0.9367>
- Korpela, K., Flint, H. J., Johnstone, A. M., Lappi, J., Poutanen, K., Dewulf, E., ... Salonen, A. (2014). Gut microbiota signatures predict host and microbiota responses to dietary interventions in obese individuals. *PLoS ONE*, 9(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090702>
- Lagier, J.-C., Million, M., Hugon, P., Armougom, F., & Raoult, D. (2012). Human Gut Microbiota: Repertoire and Variations. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00136>
- Ley, R. E. (2010). Obesity and the human microbiome. *Current*

- Opinion in Gastroenterology*, 26(1), 5–11.  
<https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e328333d751>
- Ley, R. E., Bäckhed, F., Turbaugh, P., Lozupone, C., Knight, R., & Gordon, J. (2005). Obesity alters gut microbial ecology. *PNAS*, 102(31), 11070–11075.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0504978102>
- Ley, R., Turbaugh, P. ., Klein, S., & Gordon, J. . (2006). Human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444(7122), 1022–1023. <https://doi.org/10.1038/nature4441021a>
- Linnemann, T., Geyer, M., Jaitner, B. K., Block, C., Kalbitzer, H. R., Wittinghofer, A., & Herrmann, C. (1999). Thermodynamic and kinetic characterization of the interaction between the Ras binding domain of AF6 and members of the Ras subfamily. *Journal of Biological Chemistry*, 274(19), 13556–13562. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.19.13556>
- Liou, A. P., Paziuk, M., Luevano, J. M., Machineni, S., Turnbaugh, P. J., & Kaplan, L. M. (2013). Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. *Science Translational Medicine*, 5(178). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005687>
- Liu, Z., Li, N., & Neu, J. (2005). Tight junctions , leaky intestines , and pediatric diseases, (January 2004), 386–393. <https://doi.org/10.1080/08035250410023304>
- Lucovac, S., Belzer, C., Pellis, L., Keyser, B. ., de Vos, W. ., Montijn, R. ., & Roeselers, G. (2014). Differential Modulation by *Akkermansia muciniphila* and *Faecalibacterium prausnitzii* of Host Peripheral Lipid Metabolism and Histone Acetylation in Mouse Gut Organoids. *MBio*, 5(14), 1–10. <https://doi.org/10.1128/mBio.01438-14.Editor>

- Machiels, K., Joossens, M., Sabino, J., De Preter, V., Arijs, I., Eeckhaut, V., ... Vermeire, S. (2014). A decrease of the butyrate-producing species *roseburia hominis* and *faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut*, *63*(8), 1275–1283. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-304833>
- Madara, L. (1987). Intestinal are linked absorptive cell tight junctions to cytoskeleton. *American Journal of Physiology-Cell*, *253*(1), 171–175. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1987.253.1.c171>
- Manco, M., Putignani, L., & Bottazzo, G. F. (2010). Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. *Endocrine Reviews*, *31*(6), 817–844. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0030>
- Martìn-padura, I., Lostaglio, S., Schneemann, M., Williams, L., Romano, M., Fruscella, P., ... Medicina, D. (1998). Junctional Adhesion Molecule, a Novel Member of the Immunoglobulin Superfamily That Distributes at Intercellular Junctions and Modulates Monocyte Transmigration, *142*(1), 1–11. Retrieved from <https://www-ncbi-nlm-nih-gov.ezproxy.lib.ucalgary.ca/pmc/articles/PMC2133024/pdf/15155.pdf%0Afile:///Users/nronaghan/Documents/GradSchool/Papers3Library/Library.papers3/Articles/1998/Unknown/1998.pdf%0Apapers3://publication/uuid/2349A663-52CE-416D-8BB7-C>
- Masahiko, I., M, F., Morita, K., Kubota, K., Saitou, M., & Tsukita, S. (1999). Direct Binding of Three Tight Junction-associated MAGUKs, ZO-1, ZO-2, and ZO-3, with the COOH Termini of Claudins Masahiko. *The Journal of Cell Biology*, *147*(6),



- 1351–1363. <https://doi.org/10.1002/btpr>.
- Moraes, F., & Góes, A. (2016). A decade of human genome project conclusion: Scientific diffusion about our genome knowledge. *Biochemistry and Molecular Biology Education*. <https://doi.org/10.1002/bmb.20952>
- Morita, K., Sasaki, H., Furuse, M., & Tsukita, S. (1999). Endothelial claudin: Claudin-5/TMVCF constitutes tight junction strands in endothelial cells. *Journal of Cell Biology*, *147*(1), 185–194. <https://doi.org/10.1083/jcb.147.1.185>
- Musso, G., ROBERTO GAMBINO, M., SIMONA BO, M., 2, BARBARA UBERTI, M., GIAMPAOLO BIROLI, M., ... MAURIZIO CASSADER, M. (2008). Included in the Definition of Metabolic. *Diabetes Care*, *31*(3). <https://doi.org/10.2337/dc07-1526>.Additional
- Neel, J. V. (1962). Diabetes mellitus: A “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? *American Journal of Human Genetics*.
- Neish, A. S. (2009). Microbes in Gastrointestinal Health and Disease. *Gastroenterology*, *136*(1), 65–80. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.10.080>
- Nicholson, J., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W., & Pettersson, S. (2012). Host-Gut Microbiota Metabolic Interactions. *Science*, *336*, 1262–1267. <https://doi.org/10.1126/science.1223813>
- Núñez-Cortés, J. M., Mantilla Morató, T., Toro, R., Millán Pérez, J., Mangas Rojas, A., Ascaso, J., ... Valdivielso, P. (2015). Síndrome metabólico en pacientes con fenotipo clínico de “cintura hipertriglicéridémica.” *Nutricion Hospitalaria*, *32*(3), 1145–1152. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.3.9138>

- OMS, I. de la C. I. de A. N. de la O. sobre E. no transmisibles. (2018). *Es Hora de actuar*.
- ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE SALUD. (2016). "Objetivos de Desarrollo Sostenible." *Andesco*.
- Ottman, N., HuuskonenL., L., Reunanen, J., Boeren, S., Klievink, J., Smidt, H., ... De Vos, W. M. (2016). Characterization of outer membrane proteome of *akkermansia muciniphila* reveals sets of novel proteins exposed to the human intestine. *Frontiers in Microbiology*, 7(JUL), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01157>
- Perez-moreno, M., & Fuchs, E. (2006). Catenins : Keeping Cells from Getting Their Signals Crossed. *Developmental Cell*, 11, 601–612. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2006.10.010>
- Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A., ... Guyer, M. (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*, 19(12), 2317–2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>
- Pirola, C. J., & Scientific, N. (2018). Epigenética y síndrome metabólico Epigenética y síndrome metabólico Epigenetics and Metabolic Syndrome, (March 2015).
- Plovier, H., Everard, A., Druart, C., Depommier, C., Van Hul, M., Geurts, L., ... Cani, P. D. (2017). A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nature Medicine*, 23(1), 107–113. <https://doi.org/10.1038/nm.4236>
- Png, C. W., Lindén, S. K., Gilshenan, K. S., Zoetendal, E. G., McSweeney, C. S., Sly, L. I., ... Florin, T. H. J. (2010). Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa

- augment in vitro utilization of mucin by other bacteria. *American Journal of Gastroenterology*, *105*(11), 2420–2428. <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.281>
- Popkin, B. M., Adair, L. S., & Ng, S. W. (2012). Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. *Nutrition Reviews*, *70*(1), 3–21. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2011.00456.x>
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., ... Zoetendal, E. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, *464*(7285), 59–65. <https://doi.org/10.1038/nature08821>
- Rajilić-Stojanović, M., Heilig, H. G. H. J., Molenaar, D., Kajander, K., Surakka, A., Smidt, H., & De Vos, W. M. (2009). Development and application of the human intestinal tract chip, a phylogenetic microarray: Analysis of universally conserved phylotypes in the abundant microbiota of young and elderly adults. *Environmental Microbiology*, *11*(7), 1736–1751. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01900.x>
- Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami, V. F., Stephen, E., & Medzhitov, R. (2015). Recognition of Commensal Microflora by Toll-Like Receptors Is Required for Intestinal Homeostasis. *Cell*, *118*(February), 229–241. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.07.002>
- Ravussin, Y., Koren, O., Spor, A., Leduc, C., Gutman, R., Stombaugh, J., ... Leibel, R. L. (2012). Responses of gut microbiota to diet composition and weight loss in lean and obese mice. *Obesity*. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.111>

- Reddy, K. S. (2016). Global Burden of Disease Study 2015 provides GPS for global health 2030. *The Lancet*, *388*(10053), 1448–1449. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31743-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31743-3)
- Requena, T., Barroso, E., García-Cayuela, T., Bustos, I., Martínez-Cuesta, M. ., & Peláez, C. (2013). Papel de la microbiota intestinal en la obesidad humana . Empleo de prebióticos y probióticos, *20*(3), 25–30.
- Roopchand, D. E., Carmody, R. N., Kuhn, P., Moskal, K., Rojas-Silva, P., Turnbaugh, P. J., & Raskin, I. (2015). Dietary polyphenols promote growth of the gut bacterium *akkermansia muciniphila* and attenuate high-fat diet-induced metabolic syndrome. *Diabetes*, *64*(8), 2847–2858. <https://doi.org/10.2337/db14-1916>
- Rosas Guzmán J., González Chávez A., Aschner P., B. R. y col. (2010). Consenso Latinoamericano de la Asociación Latinoamericana de Diabetes ( ALAD ) Epidemiología , Diagnóstico , Control , Prevención y Tratamiento del Síndrome Metabólico en Adultos. *Alad*, *18*(1), 25–44.
- Round, J. L., & Mazmanian, S. K. (2009). The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol*, *9*(5), 313–323. <https://doi.org/10.1038/nri2515>
- Salonen, A., Lahti, L., Salojärvi, J., Holtrop, G., Korpela, K., Duncan, S. H., ... De Vos, W. M. (2014). Impact of diet and individual variation on intestinal microbiota composition and fermentation products in obese men. *ISME Journal*, *8*(11), 2218–2230. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.63>
- Santacruz, A., Collado, M. C., García-Valdés, L., Segura, M. T., Marítn-Lagos, J. A., Anjos, T., ... Sanz, Y. (2010). Gut microbiota composition is associated with body weight,

- weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *British Journal of Nutrition*, 104(1), 83–92. <https://doi.org/10.1017/S0007114510000176>
- Sasai, M., & Yamamoto, M. (2013). Pathogen recognition receptors: Ligands and signaling pathways by toll-like receptors. *International Reviews of Immunology*, 32(2), 116–133. <https://doi.org/10.3109/08830185.2013.774391>
- Savage, & C, D. (1977). Microbial Ecology Of The Gastrointestinal Tract. *Annual Review of Microbiology*, 31, 107–133. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.31.100177.000543>
- Schertzer, J. D., Tamrakar, A. K., Magalhães, J. G., Pereira, S., Bilan, P. J., Fullerton, M. D., ... Klip, A. (2011). NOD1 activators link innate immunity to insulin resistance. *Diabetes*, 60(9), 2206–2215. <https://doi.org/10.2337/db11-0004>
- Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo - SeNplades. (2017). Ingate, 148. Retrieved from [http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL\\_0K.compressed1.pdfaterra/](http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL_0K.compressed1.pdfaterra/)
- Shen J, Obin M, & Zhao L. (2013). The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Molecular Aspects of Medicine*, 34(1), 39–58. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.11.001>
- Sperling, L. S., Mechanick, J. I., Neeland, I. J., Herrick, C. J., Després, J. P., Ndumele, C. E., ... Grundy, S. M. (2015). The CardioMetabolic Health Alliance Working Toward a New Care Model for the Metabolic Syndrome. *Journal of the American College of Cardiology*. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.06.1328>

- Sridevi Devaraj<sup>1, 2</sup>, Peera Hemarajata<sup>1, 2</sup>, James Versalovic<sup>1, 2\*</sup>. (2013). La microbiota intestinal humana y el metabolismo corporal: Implicaciones con la obesidad y la diabetes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 47(2), 421–434. <https://doi.org/0325-2957> ISSN
- Stecher, B. (2015). The Roles of Inflammation, Nutrient Availability and the Commensal Microbiota in Enteric Pathogen Infection. *Metabolism and Bacterial Pathogenesis*, 297–320. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MBP-0008-2014>
- Suárez, J. E. (2015). Microbiota autoctona, probióticos y prebióticos. *Nutricion Hospitalaria*, 31, 3–9. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.sup1.8701>
- Suau, A., Gibson, G. R., Collins, M. D., Dore, J., Bonnet, R., Sutren, M., ... Doré, J. (1999). Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(11), 4799–4807. <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-8>
- Tamrakar, A. K., Schertzer, J. D., Chiu, T. T., Foley, K. P., Bilan, P. J., Philpott, D. J., & Klip, A. (2010). NOD2 activation induces muscle cell-autonomous innate immune responses and insulin resistance. *Endocrinology*, 151(12), 5624–5637. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0437>
- Thaiss, C. A., Levy, M., Korem, T., Dohnalová, L., Shapiro, H., Jaitin, D. A., ... Elinav, E. (2016). Microbiota Diurnal Rhythmicity Programs Host Transcriptome Oscillations. *Cell*, 167(6), 1495–1510.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.003>
- Thomas H. Frazier, J. K. D. and C. J. M. (2011). Gut Microbiota,

- Intestinal Permeability, Obesity-Induced Inflammation, and Liver Injury. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 35(5\_suppl), 14S–20S. <https://doi.org/10.1177/0148607111413772>
- Tinahones, F. J. (2017). La importancia de la microbiota en la obesidad. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*, 8 (suppl), 15–20. <https://doi.org/10.3266/RevEspEndocrinolPediatr.pre2017.Apr.394>
- Turnbaugh, P. J., Bäckhed, F., Fulton, L., & Gordon, J. I. (2008). Diet-Induced Obesity Is Linked to Marked but Reversible Alterations in the Mouse Distal Gut Microbiome. *Cell Host and Microbe*, 3(4), 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.02.015>
- Turnbaugh, P. J., Hamady, M., Yatsunencko, T., Cantarel, B. L., Duncan, A., Ley, R. E., ... Knight, R & Gordon, J. (2008). A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 457, 480–485. <https://doi.org/10.1038/nature07540>
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., & Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444(7122), 1027–1031. <https://doi.org/10.1038/nature05414>
- Turner, J. R. (2009). Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 9(11), 799–809. <https://doi.org/10.1038/nri2653>
- Ulluwishewa, D., Anderson, R. C., McNabb, W. C., Moughan, P. J., Wells, J. M., & Roy, N. C. (2011). Regulation of Tight Junction Permeability by Intestinal Bacteria and Dietary Components. *The Journal of Nutrition Critical*, 141(5), 769–776. <https://doi.org/10.3945/jn.110.135657>

- Ussar, S., Griffin, N. W., Bezy, O., Fujisaka, S., Vienberg, S., Softic, S., ... Kahn, C. R. (2015). Interactions between gut microbiota, host genetics and diet modulate the predisposition to obesity and metabolic syndrome. *Cell Metabolism*, 22(3), 516–530.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.07.007>
- Utepbergenov, D. I., Fanning, A. S., & Anderson, J. M. (2006). Dimerization of the scaffolding protein ZO-1 through the second PDZ domain. *Journal of Biological Chemistry*, 281(34), 24671–24677.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M512820200>
- Van den Abbeele, P., Van de Wiele, T., Verstraete, W., & Possemiers, S. (2011). The host selects mucosal and luminal associations of coevolved gut microorganisms: A novel concept. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(4), 681–704.  
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00270.x>
- van der Flier, L. G., & Clevers, H. (2009). Stem Cells, Self-Renewal, and Differentiation in the Intestinal Epithelium. *Annual Review of Physiology*, 71(1), 241–260.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.010908.163145>
- van Passel, M. W. J., Kant, R., Zoetendal, E. G., Plugge, C. M., Derrien, M., Malfatti, S. A., ... Smidt, H. (2011). The genome of *Akkermansia muciniphila*, a dedicated intestinal mucin degrader, and its use in exploring intestinal metagenomes. *PLoS ONE*, 6(3).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016876>
- Wang, B., Yao, M., Lv, L., Ling, Z., & Li, L. (2017). The Human Microbiota in Health and Disease. *Engineering*, 3(1), 71–82.  
<https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.01.008>



- Wells, J. M., Rossi, O., Meijerink, M., & van Baarlen, P. (2011). Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(Supplement\_1), 4607–4614. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000092107>
- Wigg, A. J., Dymock, R. B., Mccarthy, P. J., Grose, R. H., Cummins, A. G., Elizabeth, Q., & Hospital, E. (2001). The role of small intestinal bacterial overgrowth , intestinal permeability , endotoxaemia , and tumour necrosis factor in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis, 206–211.
- Yacyshyn, B., Frcp, C., Meddings, J. O. N., Frcp, C., Sadowski, D., Frcp, C., & Bowen-yacyshyn, M. B. (1996). Multiple Sclerosis Patients Have Peripheral Blood CD45RO + B Cells and Increased Intestinal Permeability, *41*(12), 2493–2498.
- Yu, L. C.-H. (2012). Host-microbial interactions and regulation of intestinal epithelial barrier function: From physiology to pathology. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, *3*(1), 27. <https://doi.org/10.4291/wjgp.v3.i1.27>
- Zhang, X., Shen, D., Fang, Z., Jie, Z., Qiu, X., Zhang, C., ... Ji, L. (2013). Human Gut Microbiota Changes Reveal the Progression of Glucose Intolerance. *PLoS ONE*, *8*(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071108>
- Zhou, Y. J., Zhou, H., Li, Y., & Song, Y. L. (2012). NOD1 activation induces innate immune responses and insulin resistance in human adipocytes. *Diabetes and Metabolism*, *38*(6), 538–543. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2012.08.001>
- Zimmet, P., Alberti, K. G. M. M., & Shaw, J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*,

414(December 2001), 782–787.

- Zimmet, P., Magliano, D., Matsuzawa, Y., Alberti, G., & Shaw, J. (2005). The Metabolic Syndrome: A Global Public Health Problem and A New Definition . *Atherosclerosis and Thrombosis*, 12(6).
- Zoetendal, E. G., Rajilić-Stojanović, M., & De Vos, W. M. (2008). High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. *Gut*, 57(11), 1605–1615. <https://doi.org/10.1136/gut.2007.133603>
- Zoetendal, E. G., Wright, A. Von, Ben-amor, K., Antoon, D. L., Vos, W. M. De, Vilpponen-salmela, T., & Akkermans, A. D. L. (2002). Mucosa-Associated Bacteria in the Human Gastrointestinal Tract Are Uniformly Distributed along the Colon and Differ from the Community Recovered from Feces. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(7), 3401–3407. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.7.3401-3407.2002>
- Zupancic, M. L., Cantarel, B. L., Liu, Z., Drabek, E. F., Ryan, K. A., Cirimotich, S., ... Fraser, C. M. (2012). Analysis of the gut microbiota in the old order amish and its relation to the metabolic syndrome. *PLoS ONE*, 7(8), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043052>
- Zwielehner, J., Liszt, K., Handschur, M., Lassi, C., Lapin, A., & Haslberger, A. G. (2009). Combined PCR-DGGE fingerprinting and quantitative-PCR indicates shifts in fecal population sizes and diversity of Bacteroides, bifidobacteria and Clostridium cluster IV in institutionalized elderly. *Experimental Gerontology*, 44(6–7), 440–446. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2009.04.002>

# **ANEXOS**

**ÍNDICE ANEXOS**

<b>ANEXO</b>		<b>PÁG.</b>
1.	Formulario de recolección de datos clínicos	102
2.	Cuestionario de frecuencia de consumo alimentario	105
3.	Consentimiento Informado	107

## Anexo 1

## Formulario de recolección de datos clínicos para el proyecto

**RELACION DE LA BACTERIA AKKERMANSIA MUCINIPHILA CON  
EL SÍNDROME METABÓLICO EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL  
"DR. TEODORO MALDONADO CARBO" - ECUADOR. 2016**

Fecha: Guayaquil, ----- de ----- del 2016      CÓDIGO #: \_\_\_\_\_

1. **VARIABLES DEMOGRÁFICAS:**      CI: \_\_\_\_\_      HC#: \_\_\_\_\_

Nombres completos			
Edad (años)			
Sexo	H <input type="checkbox"/>	M <input type="checkbox"/>	
Estado civil	S <input type="checkbox"/>	C <input type="checkbox"/>	V <input type="checkbox"/> D <input type="checkbox"/> OTROS <input type="checkbox"/>
Área de trabajo			
Ocupación			
Lugar de residencia			
Dirección	Barrio o Ciudadela:		
	Calle	Av.	No.
Teléfonos	Fijo:	Cel:	
Correo electrónico			

2. **ANTECEDENTES PATOLÓGICOS PERSONALES (ponga un visto)**

PATOLOGÍAS	SI	NO	CON TRATAMIENTO	SIN TRATAMIENTO
Diabetes Mellitus 2				
Hipertensión Arterial				
Insuficiencia coronaria				
Accidente cerebrovascular				
Enfermedad vascular periférica				
Microalbuminuria				
Hiperuricemia (ácido úrico elevado)				
Diabetes gestacional				

Ovario poliquístico				
Dislipidemia (colesterol o triglicéridos altos)				
Hígado graso				
Hipotiroidismo				
Obesidad				
Síndrome hepatorenal				
Infecciones bacterianas en el año anterior (respiratorias, piel, digestivas, urinarias, oídos, sinusitis, etc.)				

**3. ANTECEDENTES PATOLÓGICOS FAMILIARES (ponga un visto )**

PATOLOGÍAS	Padre	Madre	Abuelos	Hermanos	Tíos	Primos
Diabetes Mellitus						
Obesidad						
Accidente cerebrovascular						
Enfermedad coronaria						
Hipertensión arterial						
Otros						

**4. VARIABLES METABÓLICAS (escriba el encuestador).**

BIOQUÍMICA SANGUÍNEA	mg/dl	mmol/L
Glicemia en ayunas.		
Colesterol total		
C. HDL		
C. LDL		
Triglicéridos		

**5. COPROANÁLISIS (escriba el encuestador)**

	Si	no	Porcentaje
A. muciniphila			

## 6. VARIABLES FÍSICAS (escriba el encuestador)

MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS	Kg	E/cm	Kg/m <sup>2</sup>	PA/cm
Peso				
Estatura				
IMC				
Perímetro abdominal				

## 7. VARIABLES HEMODINÁMICAS (escriba el encuestador)

PRESION ARTERIAL	mmHg
Presión arterial sistólica	
Presión arterial Diastólica	

## 8. VARIABLES DE ESTILO DE VIDA (ponga un visto)

HÁBITOS	SI			NO
	N° de cigarrillos al día	Cuántos días a la semana?	Tiempo que hace ejercicio	
Tabaquismo				
Alcoholismo				
Ejercicio físico				
Ingta. de frutas y legumbres.				

## Anexo 2.

### CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO ALIMENTARIO - CFCA

**CÓDIGO #:** \_\_\_\_\_

	<b>ENCIERRE EN UN CÍRCULO</b>			
<b>OCUPACION:</b>	<b>EDAD:</b>	<b>SEXO:</b>	<b>H</b> <b>M</b>	<b>E.Civil: S C V D UL</b>

LISTADO DE ALIMENTOS	¿CUÁNTAS VECES COME?	
	A LA SEMANA	AL MES
Leche		
Yogur		
Chocolate, tabletas, bombones, manicho, galax.		
Cereales inflados de desayuno "Crom flakes, toni mix		
Galleta tipo María.		
Galletas con chocolate, crema		
Cake, biscocho.		
Orejitas, donut, croisant (pancitos rellenos con hotdog		
Ensalada, lechuga, tomate, escanola		
Habas verdes, acelgas o espinacas.		
Verduras de guarnición, berenjena, champiñones		
Papas al horno, fritas o hervidas		
Legumbres, lentejas, garbanzos, judías		
Arroz blanco, paella.		
Pasta, fideos, macarrones, espaguetis		
Sopas, cremas		
Huevos		
Pollo o pavo		
Ternera, cerdo, cordero (bistec, empanada...)		
Carne molida, longaniza, hamburguesa.		
Pescado blanco, merluza, mero.		
Pescado azul, sardinas, atún , salmón.		
Marisco, mejillones, langostas, langostinos, calamares		
Croquetas, empanadillas, pizza.		
Pan (en bocadillo con las comidas).		
Jamón salado, dulce, embutidos.		
Queso blanco o fresco (supan, ....) o bajo en calorías		
Otros quesos: curados o semicurados, cremosos.		
Frutas citricas, naranja, mandarina.		
Otras frutas, manzana, pera melon, guineo		
Frutas en conserva (en almibar)		



Jugo de fruta natural		
	A LA SEMANA	AL MES
Jugo de fruta comercial		
Postres, lácteos, natillas, flan, requesón		
Pasteles de crema o chocolate		
Bolsas de aperitivos (tostitos, tortolines, nachos...)		
Golosinas, chicles, caramelos.		
Helados		
Bebidas azucaradas (coca cola, tropical, fanta, té)		
Bebidas bajas en calorías (coca cola light)		
Vino, sangría		
Cerveza.		
Cerveza sin alcohol		
Bebidas destiladas: whisky, ginebra, coñac, ron		

### Anexo 3. CONSENTIMIENTO INFORMADO.

#### **POR FAVOR LEA DETENIDAMENTE LA INFORMACION GENERAL Y PREGUNTE SI TIENE ALGUNA INQUIETUD.**

Señor(a), trabajador (a) lo (a) invitamos a participar voluntariamente del proyecto de investigación **“RELACION DE LA BACTERIA AKKERMANSIA MUCINIPHILA CON EL SÍNDROME METABÓLICO EN TRABAJADORES DEL HOSPITAL “DR. TEODORO MALDONADO CARBO - ECUADOR. 2015.”** Esta investigación está dirigida a todos los trabajadores de planta de ambos sexos de 18 a 65 años de edad.

La intención es detectar los factores de riesgo del Síndrome Metabólico como la obesidad central, presión arterial elevada, aumento de azúcar, elevación de los triglicéridos y disminución de Colesterol bueno (HDL) en la sangre y determinar la presencia de la bacteria *Akkermansia muciniphila* en heces, como factor protector de estos factores de riesgo, para evitar que usted sufra de infarto del corazón o cerebral y de diabetes mellitus 2.

Esta investigación es de carácter observacional por lo tanto no le producirá ningún daño, lo que podría ocasionarle es un dolor ligero en el sitio de la punción para sacarle sangre o una inflamación ligera de la vena. Está investigación es dirigida por la Dra. Bertha Leonor Maggi Garcés, investigadora principal, becaria de la universidad Estatal Península de Santa Elena, quien al momento se encuentra realizando el doctorado o PhD en Medicina en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de la ciudad de Lima - Perú. Si tuviera alguna inquietud puede llamarla a su teléfono descrito en la parte inferior de este consentimiento.

Los beneficios de este estudio son charlas educativas, diagnóstico, tratamiento y seguimiento del SÍNDROME METABÓLICO, para evitar que usted sufra de infarto del corazón o del cerebro o se convierta en un Diabético Mellitus 2 a corto plazo. Los trabajadores que ya padecen de Diabetes Mellitus 2 o Hipertensión Arterial, tendrán atención y prevención secundaria y terciaria de su enfermedad.

***Los datos obtenidos a través de esta investigación serán informados a usted y utilizados para fines investigativos y se guardaran absoluta confidencialidad.***

Su firma en este documento significa que ha decidido participar después de haber leído y discutido la información presentada en esta hoja de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
Nombre del participante

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

Dra. Bertha Maggi, M.Sc.  
Directora de Investigación  
Teléfono: 0998076953

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha