

UNIVERSIDAD DE ALICANTE
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

GRADO EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA
DISBIOSIS INTESTINAL Y DIABETES MELLITUS TIPO I
EN POBLACIÓN INFANTIL-JUVENIL: REVISIÓN
SISTEMÁTICA

FÁTIMA EZZAHRA AIT LAHCEN OULAHYANE

TUTORA: KAMILA CHEIKH MOUSSA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN Y
BROMATOLOGÍA

Trabajo Fin de Grado 2021-2022

Alicante, mayo 2022

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
2. METODOLOGÍA	6
3. RESULTADOS	8
<i>Características de los estudios</i>	8
<i>Calidad metodológica de los estudios</i>	8
<i>Técnica de análisis, diversidad microbiana y biomarcador de riesgo de diabetes</i> ...	9
<i>Relación Diabetes-Microbiota</i>	10
<i>Biomarcadores de riesgo de diabetes</i>	10
4. DISCUSIÓN	11
5. CONCLUSIÓN	13
6. BIBLIOGRAFÍA	13
7. ANEXO	15
Figura 1. Diagrama de flujo	15
TABLA 1. Características de los estudios incluidos	16
TABLA 2. Calidad metodológica de los estudios aceptados	19
TABLA 3. Evidencias recientes sobre la relación microbiota-diabetes tipo 1	20

RESUMEN

Antecedentes: La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) es una enfermedad autoinmune caracterizada por la baja producción de insulina diagnosticada en niños < 10 años y adolescentes. En la actualidad, uno de los factores en estudio como posible biomarcador de la fisiopatología de esta enfermedad es el perfil de la microbiota intestinal del paciente junto a la permeabilidad intestinal y la respuesta inmunológica frente a las células pancreáticas beta.

Objetivo: Revisar las evidencias disponibles sobre la posible asociación entre la disbiosis de la microbiota intestinal y el riesgo de desarrollar DM1 en niños y adolescentes.

Metodología: Se realizó una revisión sistemática en las bases de datos biomédicas Scopus, Cochrane y Medline utilizando los descriptores MeSH; Dysbiosis, Microbiota, Diabetes Mellitus Type1 y los filtros; Child y Adolescent. Se incluyeron los estudios siguiendo los siguientes criterios de inclusión: Disbiosis, microbiota y DM1, niños y adolescentes; se rechazaron aquellos estudios sobre otras enfermedades crónicas, estudios de intervención, en fase terminal de la vida, sobre eventos relacionados con enfermedades intestinales. La evaluación de calidad de los estudios se realizó a través de la herramienta STROBE.

Resultados y Discusión: Se localizaron 81 trabajos científicos sobre microbiota y DM1, y se aceptaron los 11 trabajos desarrollados sobre niños y adolescentes. La calidad metodológica alcanzó el 81,8% de los ítems de la guía STROBE. Los estudios se realizaron con diseño de casos y controles (8) y cohortes (3); la diversidad microbiana se analizó a través del gen 16S DNAr y 16S RNAr. Los casos de DM1 presentaron un aumento de los géneros pertenecientes a los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* (F/B 0,7 vs 0,5), este último estuvo asociado al aumento de los niveles de glucemia en ayunas frente a los controles que presentaron un incremento de bacterias antiinflamatorias como *Prevotella*, *Bifidubacterium* y *Lactobacillus*. Los géneros *Bacteroidetes* (*dorei*, *vulgatus* y *ovatus*) fueron considerados biomarcadores del riesgo de DM1.

Conclusión: se precisa de mayor número de estudios sobre los mecanismos de la asociación encontrada entre la disbiosis de la microbiota y la aparición de DM1.

Palabras Clave: disbiosis, microbiota intestinal, Diabetes mellitus tipo 1, niños y adolescentes.

ABSTRACT

Background: Diabetes Mellitus Type 1 (DM 1) is an autoimmune disease characterized by low insulin production and early onset, diagnosed in children < 10 years and adolescents. Currently, one of the environmental factors under study as a possible biomarker of the pathophysiology of this disease is the microbiota profile plus intestinal permeability and the immune response against beta pancreatic cells.

Aim: review the latest evidence on the association between microbiota dysbiosis and the risk of developing T1DM in children and adolescents.

Methods: A systematic review was conducted in the biomedical databases Scopus, Cochrane and Medline using the MeSH descriptors; Dysbiosis, Microbiota, Diabetes Mellitus Type 1 and filters; Child and Adolescent. We included studies following the following inclusion criteria: Dysbiosis, microbiota and DM I, children and adolescents; and the exclusion of studies about another chronic diseases, intervention studies, in terminal phase of life, and about events related to intestinal diseases. The quality assessment of the studies was carried out through the STROBE tool.

Results and discussion: The search strategy retrieved 81 scientific articles about microbiota and DM1, the final selection was of 11 studies addressing children and adolescents. The methodological quality reached 81,1% of the points published in the STROBE guide. The selected studies met cases and controls (8) and cohorts (3) designs; microbial diversity was analyzed through the 16S DNAr and 16S RNAr genes. DM1 patients showed an increase in the genera belonging to the phyla *Firmicutes* and *Bacteroidetes* (F/B 0.7 vs 0.5). The genera *Bacteroidetes* was higher in patients with increased blood glucose levels versus healthy subjects that presented increased levels of certain anti-inflammatory bacteria such as *Prevotella*, *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. The *Bacteroidetes* genera (*dorei*, *vulgatus* and *ovatus*) was considered biomarker of DM1 risk.

Conclusions: More evidence is relevant to comprehend the mechanism behind the demonstrated association between the microbiota dysbiosis and the appearance of DM1.

Key Words: Dysbiosis, gut microbiota, Diabetes Mellitus Type 1, Children, Adolescents

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo I (DM1) es una patología crónica diagnosticada mayoritariamente en niños y adolescentes, su etiología es heterogénea, de factor patógeno desconocido y precedida por un periodo subclínico caracterizado por la pérdida selectiva de células beta, productoras de insulina en los islotes pancreáticos, produciendo un aumento de los niveles de glucosa en sangre y desencadenando múltiples desequilibrios metabólicos y fisiológicos. Entre los síntomas de la diabetes mellitus tipo 1 encontramos: poliuria, polifagia y polidipsia, así como cansancio, aumento en el apetito, problemas en la vista y pérdida de peso (1). La prevalencia de DM1 en niños y adolescentes es de 9 millones de personas en 2017, y presenta una mayor incidencia en países desarrollados (2).

La vulnerabilidad de las personas a padecer DM 1 está vinculada con ciertos antígenos leucocitarios humanos (HLA), no obstante, no es decisivo en su patogénesis, recientes evidencias apuntan a un factor intrínseco del paciente, la microbiota intestinal, conocido como “el órgano oculto” participa en diversas funciones fisiológicas como la producción de energía, la metabolización de nutrientes y el mantenimiento de la pared intestinal y a su vez en la regulación inmunológica protegiendo el organismo de posibles patógenos (3). La mejora en las técnicas de secuenciación de ADN conocidas como *Next-Generation sequencing* han permitido conocer los principales filos bacterianos intestinales conocidos como *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y *Proteobacteria*, y a través del análisis de ARN mensajero se pudieron determinar algunas de sus funciones protectoras (antiinflamatorias, regeneradoras) e inflamatorias y su capacidad de interactuar con el huésped y su participación en el desarrollo de enfermedades autoinmunes como la DM 1 (4), los nuevos hallazgos sobre las diferencias en la diversidad bacteriana entre personas con DM 1 y controles apuntan al desequilibrio en la microbiota como un nuevo biomarcador de la enfermedad. A lo largo del ciclo vital los hábitos alimentarios y el estilo de vida de las personas son determinantes en los cambios ocurridos en la microbiota intestinal sin embargo, el momento decisivo sobre la riqueza de la microbiota es durante el embarazo dependiendo en gran medida de los hábitos de consumo de la madre, así como del uso de terapias antibióticas durante el mismo, y se ha comprobado la relación entre la práctica de cesárea y los bajos niveles en diversidad microbiana del recién nacido; recientemente estos cambios se han relacionados con un mayor riesgo del desarrollo de la DM1 en niños menores de 5 años (3). Otro factor

relacionado con el desarrollo de la DM I es el aumento de la permeabilidad intestinal o intestino permeable; la incapacidad del intestino en impedir que lleguen a la circulación sistémica ciertos patógenos y de productos de desecho aumenta los procesos inflamatorios y así la respuesta inmune. Por lo contrario, se ha demostrado el efecto protector de los grupos microbianos (*Actinobacterias* y géneros del filo *Bacteroidetes*) productores de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), butirato, propionato y acetato, éstos se encontraban en menor densidad en niños que presentaban autoanticuerpos contra islotes pancreáticos, así como un aumento en la permeabilidad intestinal (3). Uno de estos AGCC posee un rol importante en la DM1, el butirato producido por el filo *Firmicutes* participa en la homeostasis intestinal y se ha relacionado con el proceso de diferenciación de células T reguladoras y mediadoras contra las células beta del páncreas en individuos genéticamente predisuestos. La disminución del género *Prevotella* (filo *Bacteroidetes*) conocido por su actividad antiinflamatoria se ha relacionado inversamente con procesos inflamatorios intestinales previos a la aparición de la DM1 (4,5).

En los últimos años, se ha logrado un aumento de las evidencias sobre la relación entre las alteraciones la microbiota intestinal y la aparición de la diabetes mellitus tipo 1, no obstante, es necesario un mayor número de estudios experimentales para resolver las incógnitas sobre la interacción de la microbiota en el desarrollo de la enfermedad y que tipo de intervenciones o factores ambientales se podrían mejorar o evitar para reducir la aparición de dichas alteraciones.

El objetivo de este estudio es revisar las últimas evidencias sobre la asociación entre la disbiosis de la microbiota intestinal y el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 1 en niños y adolescentes.

2. METODOLOGÍA

Este trabajo es un estudio descriptivo de los resultados recogidos a través de la técnica de revisión sistemática de estudios sobre la relación entre la alteración del microbiota intestinal y la aparición de la DM I. Se realizó una búsqueda exhaustiva en las bases de datos biomédicas; Medline vía PubMed, la biblioteca Cochrane y Scopus. Se utilizaron los descriptores MeSH; Dysbiosis; Microbiota y Diabetes Mellitus Type 1, y se aplicaron los filtros; Child: 6-12 years, Adolescent: 13-18 years. La estrategia de búsqueda se adaptó a las características de las bases de datos consultadas; en la base de datos Scopus se utilizó la siguiente ecuación de búsqueda (“Dysbiosis” [MeSH Terms]) AND (“Microbiota” [MeSH Terms]) AND (“Diabetes Type 1” [MeSH Terms]) AND

("Child" [MeSH Terms]) AND ("Adolescent" [MeSH Terms]). En la biblioteca Cochrane, se construyó la siguiente búsqueda ("Dysbiosis" [MeSH Terms] AND "Microbiota" [MeSH Terms] AND "Diabetes mellitus type 1"[MeSH Terms]). En Medline vía PubMed se ha seguido la siguiente estrategia de búsqueda ("Dysbiosis"[MeSH Terms] OR "Dysbiosis"[All Fields] OR "Dysbioses"[All Fields]) AND ("Microbiota"[MeSH Terms] OR "Microbiota"[All Fields] OR "Microbiotas"[All Fields] OR "Microbiota s"[All Fields] OR "Microbiotae"[All Fields]) AND ("Diabetes mellitus, type 1"[MeSH Terms] OR "type 1 diabetes mellitus"[All Fields] OR "diabetes mellitus type 1"[All Fields])) AND (child[Filter] OR adolescent[Filter]). Se aceptaron todos los estudios de lengua extranjera (inglés, francés, portugués, italiano). Los criterios de inclusión empleados en la selección de los estudios fueron los siguientes: Disbiosis, microbiota, diabetes mellitus tipo 1 y niños y adolescentes (6 a 18 años). Se rechazaron aquellos estudios de intervención, realizados en modelo animal, estudios de intervención, trabajos realizados en adultos, y de otras enfermedades crónicas y DM 2, estudios sobre enfermedades inflamatorias intestinales, en fase terminal de la vida y estudios de investigación experimental.

Para la evaluación de la calidad metodológica de los artículos encontrados, se han seguido los criterios de la herramienta STROBE, a través de los siguientes 22 ítems: título y resumen (1 ítem), introducción (2 ítems), la metodología (9 ítems), resultados (5 ítems), discusión (4 ítems) y 1 ítem que valora la declaración específica de la financiación recibida para el desarrollo de la investigación realizada (6); se emplearon porcentajes para analizar los niveles de calidad total. Se realizó una segunda búsqueda en el listado bibliográfico de los artículos incluidos para la recogida de aquellos no detectados en la búsqueda primaria. Se realizó una discusión de la pertinencia de los artículos seleccionados a través de la lectura independiente de los artículos entre la autora y la tutora.

La extracción de los datos consistió en una primera síntesis de las características de los estudios (año y lugar de estudio), la población de estudio, la técnica de secuenciación realizada, las medidas biológicas de la diversidad microbiana y el biomarcador del riesgo de la diabetes mellitus y las variables diagnósticas de la enfermedad. En una segunda tabla se clasificaron los resultados de los estudios a través del nivel taxonómico estudiado y la alteración microbiana a través de las medidas de abundancia de los filos principales (coeficiente entre los géneros *Firmicutes/Bacteroidetes*), géneros, y especies detectadas, la medida de diversidad alfa

(intragrupal) y beta (intergrupal) a través de los índices (Shannon, Simpson; entre otros), y las bacterias encontradas como biomarcadores del riesgo de DM1.

3. RESULTADOS

Tras la búsqueda realizada en las diferentes bases de datos se obtuvo un total de 81 artículos científicos: Medline (12), Scopus (64) y de la biblioteca Cochrane (5), y otros 11 artículos se localizaron en una segunda búsqueda a través del listado bibliográfico de los estudios aceptados, tras aplicar los criterios de inclusión y exclusión se aceptó un total de 11 estudios primarios (Figura 1).

Características de los estudios

El diseño de los estudios observacionales fue principalmente de casos y controles (7-14) y otros tres de cohortes (15-17). El periodo de publicación de los artículos comprendió los últimos 10 años, todos los estudios se realizaron en países desarrollados y de diferentes regiones poblaciones como Finlandia (10,15), España (7,12), Italia (13,17), Turquía (8), México (9), China (14) y Australia (16), uno de los estudios no especificó el país en que se ha realizado (11); y la muestra poblacional difería en los grupos de edad estudiados, cuatro valoraron la microbiota y el riesgo de diabetes en niños entre 6 y 10 años (7,8,11,13,16,17), y el resto de estudio en niños mayores de 5 y adolescentes menores de 18 años (9,10,12,14,15).

Calidad metodológica de los estudios

La calidad metodológica descrita en la tabla 2 muestra un cumplimiento mayoritario entre el 95,4% (7,10,13) y 90,9% (12,14-16) de los ítems de calidad descrita por la guía STROBE, otros dos trabajos alcanzaron el 86,4% (8,9) de los ítems y un estudio alcanzó el 81,8% (11) de los apartados. Los estudios seleccionados expresan su objetivo o hipótesis de investigación a excepción de la investigación realizada por Davis-Richardson et al (15), en cuanto a la puntuación del apartado métodos, 8 trabajos alcanzaron el 88% de los nueve ítems (7,9,10,13-17), otros 2 estudios incluían el 77,7% de los ítems (8,12) y el estudio liderado por Pinto E et al (2017) cumplió con el 66,6% de los puntos descritos (11). Todos los estudios alcanzaron el 100% de los ítems considerados en la guía para el apartado de resultados y discusión, a excepción de la investigación de Mejía-León et al., cumpliendo el 75% de la calidad en el apartado de discusión.

Técnica de análisis, diversidad microbiana y biomarcador de riesgo de diabetes

La técnica de secuenciación descrita por los autores consistía en la extracción y el análisis del gen 16S RNAr (7,9,12,14-17) o 16S DNAr (10,13), y los autores Pinto et al(11) analizaron la diversidad y la expresión proteica de las bacterias. La amplificación del gen estudiado se realizó vía PCR (7,9-11,13-16) y el equipo de secuenciación utilizado fue el Illumina a través de diferentes modelos; MiSeq (10,13-16), HiSeq 2000 (15), otros estudios utilizaron tecnologías como; 454 Life Sciences Genome Sequencer FLX instrument entre otras, ver tabla 1. El preprocesado de los fragmentos de ADN o ARN analizados, su filtrado y el estudio de la calidad se realizaron a través de diferentes softwares; como QIIME o QIIME2 (9,10,12-14,16), USEARCH versión 6.022 (15), Ion Reporter suite software (versión 5.10) (17), DADA2 (13), ver tabla 1. Sin embargo, el autor Soyucen et al(8) no especificó el procedimiento utilizado e hizo referencia al manual descrito por un laboratorio externo.

El análisis de la diversidad microbiana se realizó a través de tres mediciones, la diversidad general se estudió a través de los cuatros principales filos presentes en las muestras, la diversidad alfa intragrupal o de los casos se valoró a nivel de género o de especies y por último, la diversidad beta intergrupala o frente a los controles, para ello se utilizaron diferentes índices (ver tabla 1). La relación de diversidad microbiana y el riesgo de padecer diabetes se realizó de diferente forma entre los estudios e independientemente del diseño de los mismos; en los tres estudios de cohortes se utilizaron diferentes criterios; Davis-Richardson AG, et al, utilizó el análisis del perfil microbiano antes y después de la seroconversión, Biassoni et al, analizó la composición microbiana una vez diagnosticada la DM1 y Harbison et al valoró su relación a través de distintos marcadores serológicos; y en cuatro estudios de casos y controles se analizaron las diferencias en la composición de la microbiota intestinal en DM1 y controles (8,9,12,13), Pinto et al(11) valoró la composición y la funcionalidad de las bacterias a través del proteoma intestinal en pacientes con DM1 y en pacientes sanos, Murri et al(7) y Liu et al(14) valoraron la relación de la disbiosis intestinal con el aumento de glucemia en ayunas y Cinek et al(10) observó la relación entre alteraciones de la microbiota y la respuesta inmune frente a los islotes pancreáticos.

Relación Diabetes-Microbiota

La diversidad general de los cuatro principales filos *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacterias* y *Proteobacterias* era superior en los pacientes con DM1 frente a los sujetos sanos [p<0,05] (15) sin embargo, en el estudio de Pinto et al(11) este incremento se observó de forma inversa en los sujetos sanos y en otros tres estudios no se obtuvieron diferencias en la diversidad general entre niños con DM1 y sanos (7-9). La relación de los filos más abundantes (*Firmicutes/Bacteroidetes*) presentó un coeficiente mayor en los casos de DM1 (p<0,05) (13,14), no obstante 2 estudios observaron su disminución en el aumento de la hemoglobina glicosilada [p<0,05] (7,12).

La diversidad alfa valorada a nivel de género y de especies fue mayor en niños con DM1 [Índice Shannon 4 vs 3,3; p<0,05] (14,17) sin embargo, tres estudios observaron este aumento en el grupo de control (7,12,16); otros cuatro autores no observaron diferencias intraindividuales en la diversidad microbiana [p>0,05] (9,10,12,13), ver tabla 3. En cuanto a la diversidad comparada entre pacientes y sujetos sanos valorada a través de la diversidad beta fue mayor en casos de DM1 [p<0,05] (9,12-14,17), mientras Murri et al (7), observó dicho incremento en niños sanos [p<0,05], no obstante dos estudios no observaron diferencias en la diversidad interindividual entre casos y controles (p>0,05) (10,16). Los géneros más abundantes y relacionados con el riesgo o el desarrollo de la DM1 fueron el género *Bacteroides* [p<0,05] (9,14,15), y las bacterias *Eubacterium hallii*, *Blautia*, *Anaerostipes*, *Dorea*, *Lachnospirae* sin clasificar, *Klebsiella*, *Collinsella*, *Peptostreptococcaceae* (sin clasificar), *Coprobacter*, *Veillonella*, y *Streptococcus* [p<0,05] (12,14,17), y este aumento se observó en detrimento en los siguientes géneros; *Prevotella*, *Butyricimonas* [p<0,05] (16), *Ruminococcus* [p<0,05] (12), *Bifidobacterium* [p<0,05] (7,8,13), *Megamonas* [p= 0,0161], *Acidaminococcus* [p= 0,0214], *Clostridium*, *Veillonella*, *Eggerthella* y *Bacillus* [p< 0,05] (7,9). En los niños sanos se observó un aumento de los siguientes géneros *Faecalibacterium*, *Lachnospira*, *Roseburia* (12) y *Coprococcus* (14).

Biomarcadores de riesgo de diabetes

Las especies bacterianas detectadas como biomarcadores de riesgo de DM1 debido a su abundancia en los casos de DM 1 (CC) frente a los controles (CT) fueron las bacterias *Bacteroides dorei* [CC: 17,3% y CT: 0,18%], *Bacteroides ovatus* y *Eubacterium hallii* [p<0,05] (14,15) y Pinto E, et al observó una mayor expresión proteica de las

bacterias *B.dorei*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prausnitzii* ($p < 0,05$) en los niños que presentan DM1 (11).

4. DISCUSIÓN

En la presente revisión se reflejó la relación entre la alteración de la composición microbiana con la aparición de la diabetes mellitus 1. Se detectó una heterogeneidad en el diseño elegido para los estudios, y en los países y poblaciones de estudio siendo la totalidad de países desarrollados confirmando la cifra declarada por la OMS sobre la incidencia de la enfermedad en dichos países. El análisis de la diversidad microbiana general o específica de los géneros y especies se realizó a través de diferentes marcadores biológicos y así mismo para la valoración del riesgo de la enfermedad utilizando diferentes marcadores serológicos o de respuesta inmune.

La diversidad alfa o la diversidad observada en los pacientes con DM I asociada al aumento de la glucemia en ayunas (14,17) es similar a otros estudios como la investigación realizada por de Goffau et al (18) que advirtió un aumento de esta diversidad en los niños mayores de 2,9 años con DM 1, las discrepancias de estos resultados con otros estudios valorados con dicha diversidad superior en pacientes sanos pone de manifiesto la necesidad de unificar criterios de valoración, ya que en los estudios valorados en esta revisión se utilizaron diferentes protocolos de tratamiento y estudio de las muestras (7,16).

Las diferencias de diversidad analizadas entre pacientes sanos y pacientes con DM 1 también se valoró con diferentes marcadores serológicos de glucemia, en los estudios donde los casos de DM 1 presentaron una asociación entre el aumento de la relación de los dos principales géneros bacterianos (*Firmicutes/Bacteroidetes*) y la diabetes, ésta se valoró a través de la glucemia en ayunas (13,14), mientras los estudios que encontraron dicho aumento pero en pacientes sanos valoraron los niveles de azúcar a través de la hemoglobina glicosilada (HbA1c) (7,8,12) ; autores como de Gouffau et al(18) confirmaron la asociación entre el aumento de Bacteroidetes y Streptococcus con la aparición de DM 1 en niños recién diagnosticados de esta enfermedad a través del análisis de las diferencias de la composición microbiana entre casos y controles coincidiendo con los resultados obtenidos en los estudios analizados.

A nivel de género los autores observaron en niños con DM 1 la disminución de géneros bacterianos relacionados con actividad antiinflamatoria como *Prevotella* y *Butyricimonas*, *Ruminicoccus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* (7-9,12,13), (6-8,11,12)

mientras en los pacientes con DM1 instaurada y en los niños con anticuerpos frente a los islotes pancreáticos se observó un incremento de géneros bacterianos conocidos por su actividad inflamatoria como *Suterella* y *Flavonifractor* a su vez presentaban mayor permeabilidad intestinal y mayores valores de HbA1c; esto difiere del estudio realizado por Pinto et al(11), aunque observó un incremento de las proteínas que expresan las funciones del género *Bifidobacterium* en los controles, no corroboró diferencias significativas del recuento de la especie *Bifidobacterium spp CC* en casos y controles. En la búsqueda de biomarcadores del riesgo en el desarrollo de la enfermedad, los autores observaron el incremento de las especies *B. dorei*, *B. ovatus*, *Eubacterium halli* y *Anaerostipes hadrus* (11,14,15) ; por contrario, en el estudio realizado por Cinek et al (10), ésta relación fue inversa entre los recuentos de la bacteria de *B. dorei* con el aumento de la autoinmunidad frente a los islotes β pancreáticos ; Pinto et al(11) encontró un incremento de las proteínas de expresión de la especie *Faecalibacterium prausnitzii* debido a los niveles aumentados de la enzima gluconeogénica fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (FP2_13680), asociada a la disminución de sustratos glucolíticos en niños con DM1 y con un aumento de la glucosa en sangre, en otro estudio realizado por Gavin et al (19), también se confirmó el aumento de las proteínas de expresión de esta especie bacteriana.

Durante el desarrollo de esta revisión se encontraron limitaciones que dificultan la declaración de una posible relación causal entre el desarrollo de la enfermedad y los cambios en la composición microbiana y su actividad, esto puede deberse al escaso número de estudios publicados sobre la relación de la disbiosis microbiana y la aparición de la DM 1; por lo tanto se precisa de una mayor homogeneidad en el diseño de los estudios y el control de los posibles factores de sesgo como las características de la población a estudio (edad, región de estudio) y la variabilidad conocida del enterotipo entre los distintos orígenes étnicos declarada por autores como Mobeen et al (20), como las diferencias en los métodos empleados para la recogida, tratamiento y secuenciación de las muestras utilizadas, y en los marcadores serológicos utilizados para el diagnóstico de DM 1 y de los índices indicativos de la composición y la actividad de las bacterias. Sería de interés la puesta en marcha de estudios de seguimiento longitudinal prospectivo para valorar los efectos de la relación encontrada.

5.CONCLUSIÓN

A pesar de las diferencias en el diseño y el origen de las muestras incluidas en los 11 estudios analizados, los resultados encontrados muestran una asociación entre la disbiosis de la microbiota intestinal y la aparición de diabetes mellitus tipo 1 en niños y adolescentes, no obstante es necesario realizar estudios más homogéneos, desarrollar protocolos unificados tanto para el estudio de la relación composición microbiana con los marcadores del riesgo de la enfermedad y un mayor número de estos longitudinales prospectivos que aporten más datos sobre esta hipótesis y puedan establecer relación causa efecto de la alteración de la microbiota y su relación con la DM 1 en población infantil y juvenil.

6.BIBLIOGRAFÍA

(1) OMS. Diabetes. 2021; Available at: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.

(2) Diabetes - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. Available at: <https://www.paho.org/es/temas/diabetes>. Accessed Mar 13, 2022.

(3) Zhou H, Sun L, Zhang S, Zhao X, Gang X, Wang G. Evaluating the causal role of gut microbiota in type 1 diabetes and its possible pathogenic mechanisms. *Frontiers in Endocrinology* 2020;11:125.

(4) Gradisteanu Pircalabioru G, Corcionivoschi N, Gundogdu O, Chifiriuc M, Marutescu LG, Ispas B, et al. Dysbiosis in the Development of Type I Diabetes and Associated Complications: From Mechanisms to Targeted Gut Microbes Manipulation Therapies. *International Journal of Molecular Sciences* 2021;22(5):2763.

(5) Velasquez MT, Lew SQ. Gut microbiota dysbiosis in diabetes mellitus. *Philippine Science Letters* 2021;14(1).

(6) Fernández E. Estudios epidemiológicos (STROBE). *Medicina clínica* 2005;125:43-48.

(7) Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, Cardona F, Soriguer F, et al. Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study. *BMC Medicine* 2013 Feb 21;11(1):46.

(8) Soyucen E, Gulcan A, Aktuglu-Zeybek AC, Onal H, Kiykim E, Aydin A. Differences in the gut microbiota of healthy children and those with type 1 diabetes. *Pediatrics international* 2014 Jun;56(3):336-343.

(9) Mejía-León ME, Petrosino JF, Ajami NJ, Domínguez-Bello MG, de la Barca, A. M. Fecal microbiota imbalance in Mexican children with type 1 diabetes. *Sci Rep* 2014 Jan 22;4:3814.

(10) Cinek O, Kramna L, Lin J, Oikarinen S, Kolarova K, Ilonen J, et al. Imbalance of bacteriome profiles within the Finnish Diabetes Prediction and Prevention study: Parallel use of 16S profiling and virome sequencing in stool samples from children with islet autoimmunity and matched controls. *Pediatr Diabetes* 2017;18(7):588-598.

(11) Pinto E, Anselmo M, Calha M, Bottrill A, Duarte I, Andrew PW, et al. The intestinal proteome of diabetic and control children is enriched with different microbial and host proteins. *Microbiology* 2017;163(2):161-174.

(12) Carlos Fernández-García J, Leiva-Gea I, Sánchez-Alcoholado L, Martín-Tejedor B, Castellano-Castillo D, Moreno-Indias I, et al. Gut Microbiota Differs in Composition and Functionality Between Children With Type 1 Diabetes and MODY2 and Healthy Control Subjects: A Case-Control Study. *Diabetes Care* 2018 -11;41.

(13) Traversi D, Rabbone I, Scaioli G, Vallini C, Carletto G, Racca I, et al. Risk factors for type 1 diabetes, including environmental, behavioural and gut microbial factors: a case-control study. *Sci Rep* 2020;10(1).

(14) Liu X, Cheng YW, Shao L, Sun SH, Wu J, Song QH, et al. Gut microbiota dysbiosis in Chinese children with type 1 diabetes mellitus: An observational study. *World J Gastroenterol* 2021 May 21;27(19):2394-2414.

(15) Davis-Richardson AG, Ardisson AN, Dias R, Simell V, Leonard MT, Kempainen KM, et al. *Bacteroides dorei* dominates gut microbiome prior to autoimmunity in Finnish children at high risk for type 1 diabetes. *Frontiers in Microbiology* 2014;5:678.

(16) Harbison JE, Roth-Schulze AJ, Giles LC, Tran CD, Ngui KM, Penno MA, et al. Gut microbiome dysbiosis and increased intestinal permeability in children with islet autoimmunity and type 1 diabetes: A prospective cohort study. *Pediatr Diabetes* 2019;20(5):574-583.

(17) Biassoni R, Di Marco E, Squillario M, Barla A, Piccolo G, Ugolotti E, et al. Gut Microbiota in T1DM-Onset Pediatric Patients: Machine-Learning Algorithms to Classify Microorganisms as Disease Linked. *The journal of clinical endocrinology and metabolism* 2020 Sep 01;105(9):e3114-e3126.

(18) de Goffau MC, Fuentes S, van den Bogert B, Honkanen H, de Vos WM, Welling G, et al. Aberrant gut microbiota composition at the onset of type 1 diabetes in young children. *Diabetologia* 2014 Aug;57(8):1569-1577.

(19) Gavin PG, Mullaney JA, Loo D, Cao KL, Gottlieb PA, Hill MM, et al. Intestinal Metaproteomics Reveals Host-Microbiota Interactions in Subjects at Risk for Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2018 Oct;41(10):2178-2186.

(20) Mobeen F, Sharma V, Tulika P. Enterotype Variations of the Healthy Human Gut Microbiome in Different Geographical Regions. *Bioinformatics* 2018;14(9):560-573.

7.ANEXO

Figura 1. Diagrama de flujo

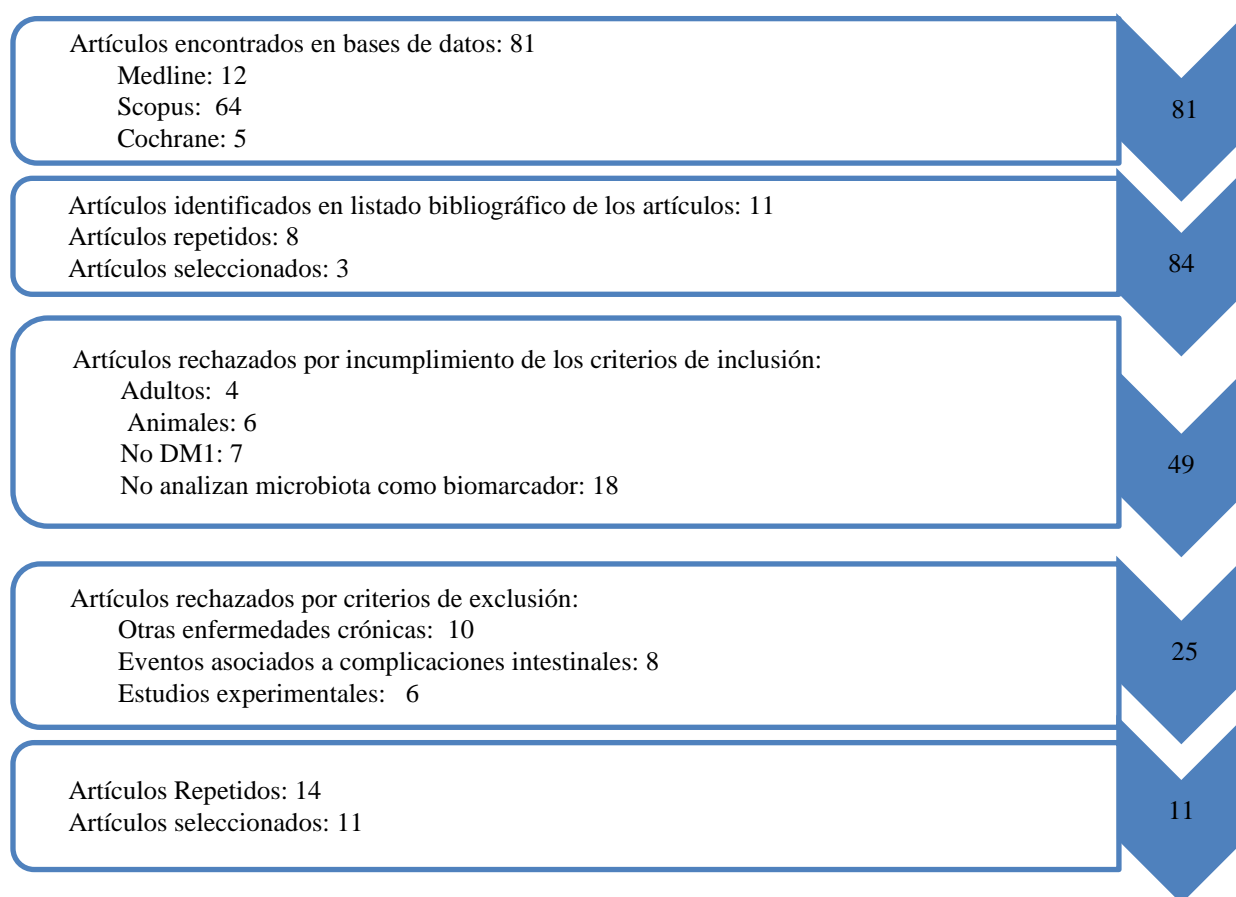


TABLA 1. Características de los estudios incluidos

AUTOR	AÑO, PAÍS, DISEÑO	POBLACIÓN	TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN	PARÁMETROS DE MEDICIÓN (MICROBIOTA-DIABETES)	MEDICIÓN DE RIESGO DE DIABETES
Murri M et al.	2013 España Casos y Controles	Niños 7.16 ±0.72 años 7.48 ±0.87 años	16S RNAr A: PCR-DGGE Sec: ABI 3130 MicroSeqID v2.1.1	Diversidad: DGGE bands (± sd y p-valor) Alfa: Man-Whitney U Test Beta: Man-Whitney U Test	Composición microbiota relacionada con ↑ o ↓ glucemia
Soyucen E et al.	2014 Turquía Casos y Controles	Niños y adolescentes 10.73 ± 4.16 años 9.96 ± 4.09 años	N/A	Diversidad (índice Fisher)	Diferencias microbiota y aparición de DM1
Davis-Richardson AG et al.	2014 Finlandia Cohortes	Niños y Adolescentes 11 a 14 años	16S RNAr SYBR Green A: Quantitative PCR Sec: Illumina HiSeq y MiSeq USEARCH (versión 6.022)	Diversidad general (p-valor, Mann-Whitney U-test)	Diferencias microbiota antes de la seroconversión a DM1
Mejía-León ME et al.	2014 México Casos y Controles	Niños y Adolescentes 7 a 18 años	16S RNAr A: PCR Sec: 454 Life Sciences Genome Sequencer FLX instrument (Roche) QIIME	Diversidad general: p-valor, t-student Beta: UniFrac	Diferencias microbiota DM1 y controles
Cinek O et al.	2016 Finlandia Casos y Controles	Niños y adolescentes 9 a 16 años	16S DNAr A: PCR Sec: Illumina Miseq QIIME versión 1.9.1	Alfa: Chao1, ACE, Shannon, Simpson, Fisher. Beta: Bray-Curtis, DPCoA, Gower, Jaccard, divergencia de Jensen-Shannon, Mountford	Diferencias microbiota: ↑ o ↓ autoinmunidad a los islotes pancreáticos

simplificado, Índice de Morisita, Sørensen, UniFrac no ponderado y ponderado.

Pinto E et al.	2017 Casos y Controles	Niños 9.3±0.6 años 9.3±1.5 años	qPCR Función: Digestión enzimática de proteínas. Análisis: espectrofotómetro de masas. Identificación: Scaffold software Identificación proteínas: RPS-BLAST	Diversidad general (Fisher)	Diferencias composición proteoma intestinal DM1 y controles sanos
Carlos Fernández-García J et al	2018 España Casos y Controles	Niños y Adolescentes 12.56 ± 3.59 años 12.25 ± 2.92 años	16S RNAr A: GS Junior 454 platform Sec: GS Junior 454 platform QIIME versión 1.8.0	Alfa: t- student no paramétrica con 999 permutaciones de Monte Carlo Beta: Mann-Whitney U test	Diferencias microbiota y aparición de DM1
Harbison JE et al.	2019 Australia Cohortes	Niños Media 10,9 años	16S RNAr A: PCR Sec: Illumina MiSeq QIIME2 versión 2017.12	Alfa (Riqueza, número de características, Shannon inversa o Evenness) Beta (índice Bray-Curtis)	Disbiosis microbiota ↑ o ↓ permeabilidad intestinal
Traversi D et al.	2020 Italia Casos y Controles	Niños 8.23±1.42 años 7.87±1.72 años	16S DNAr A: PCR-DGGE y qRT-PCR Sec: MiSeq 300PEPro341F y Pro805R primer pair DADA2 QIIME2	Alfa: Shannon, Pielou, Faith PD y prueba Kruskal-Wallis Beta (Bray-Curtis, Métricas Jaccard y UniFrac ponderada y no ponderada)	Disbiosis microbiota: riesgo de DM1

Biassoni R et al.	2020 Italia Cohortes	Niños Adolescentes 10.3±4.1 años	y	16S RNAr A: Ion 16S Metagenomics Kit Sec: GeneStudio S5 system Ion Reporter suite software version 5.10	Alfa (índice Chao1, Shannon, Simpson, Fisher y estimadores de abundancia ACE) Beta (índice de Bray Curtis y UniFrac no ponderada)	Composición microbiota en recién diagnosticados de DM1
Liu X et al.	2021 China Casos y Controles	Niños Adolescentes 6 a 14 años	y	16S RNAr A: PCR Sec: Illumina MiSeq QIIME2 (versión 2020.11)	Alfa (ACE, Simpson, Simpson inverse, chao1, Shannon, Shannon inversa; Evenness) y Beta (UniFrac ponderada y no ponderada, distancia Bray-Curtisy Jaccard	Disbiosis relacionada con ↑ o ↓ glucemia en ayunas)

N/A: no aportado, A; amplificación, Sec: secuenciación, ↓: disminución, ↑: aumento

TABLA 2. CALIDAD METODOLÓGICA DE LOS ESTUDIOS ACEPTADOS

ESTUDIO	TÍTULO Y ABSTRACT (1 punto)	INTRODUCCIÓN (2 puntos)	MÉTODOS (9 puntos)	RESULTADOS (5 puntos)	DISCUSIÓN (4 puntos)	FINANCIACIÓN (1 punto)	TOTAL (22 puntos)
Murri M et al.	1	2	8	5	4	1	21
Soyucen E et al.	1	2	7	5	4	0	19
Davis-Richardson AG et al.	1	1	8	5	4	1	20
Mejía-León ME et al.	0	2	8	5	3	1	19
Cinek O et al.	1	2	8	5	4	1	21
Pinto E et al.	0	2	6	5	4	1	18
Carlos Fernández-García J et al.	1	2	7	5	4	1	20
Harbison JE et al.	1	2	8	5	4	0	20
Biassoni R et al.	0	2	8	5	4	1	20
Traversi D et al.	1	2	8	5	4	1	21
Liu X et al.	1	2	8	5	4	0	20

Puntuación calidad STBOBE

TABLA 3. Evidencias recientes sobre la relación microbiota-diabetes tipo 1

AUTOR	DISEÑO/ POBLACIÓN	NIVEL TAXONÓMICO ENCONTRADO	RESULTADOS
Murri M et al.	Casos y Controles Niños 7.16 ±0.72 años 7.48 ±0.87 años 16H/16M	Filo, Género	<p>1. ABUNDANCIA Género <i>Clostridium</i>, <i>Bacteroides</i>, <i>Veillonella</i>, <i>Eggerthella</i>, <i>Bacillus</i>: CC>CT (p<0,05) Género <i>Prevotella</i>, <i>Bifidobacterium</i> CC< CT (p<0,05)</p> <p>2. DIVERSIDAD General: CC vs CT (p>0,05) Alfa: CC: 37.56 ±5.67 vs CT: 47.39 ±4.35 CC <CT (p<0,05) Beta CC < CV (p<0,05)</p> <p>3. RELACIÓN DM- Microbiota DM: ↓F/B, ↑ niveles HbA1c Género: ↓ <i>Bifidobacterium</i> y <i>Lactobacillus</i>, ↑ niveles HbA1c (p<0,05).</p>
Soyucen E, et al.	Casos y Controles Niños y adolescentes 10.73 ± 4.16 años 9.96 ± 4.09 años 39H/31M	Familia, Género y Especie	<p>1. ABUNDANCIA Familia <i>Enterobacteriaceae</i> DM > CT (p<0,05) Género <i>Bifidobacterium</i> DM < CT (p<0,05)</p> <p>2. DIVERSIDAD General: DM vs CT (p>0,05)</p> <p>3. RELACIÓN DM- Microbiota</p>

Davis-Richardson et al.	AG Cohortes Niños y Adolescentes 11 a 14 años	Filo, Género y Especies	<p>1. ABUNDANCIA Filo: <i>Bacteroidetes</i> CC> CT (p<0,05) Género: <i>Bacteroides</i> CC (44,4%) vs CT (30,7%) (p<0,05)</p> <p>2. DIVERSIDAD General: CC> CT (p<0,05)</p> <p>3. RELACIÓN DM- Microbiota. DM: ↑especies <i>B. dorei</i> y <i>B. vulgatus</i> ↑ autoinmunidad a los islotes (p<0,05) Biomarcadores encontrados: <i>Bacteroides dorei</i>.</p>
Mejía-León ME, et al.	Casos y Controles Niños y Adolescentes 7 a 18 años	Filo y Género	<p>1. ABUNDANCIA Filo: CC vs CT (p>0,05). Género: <i>Prevotella</i>, <i>Megamonas</i> y <i>Acidaminococcus</i> (CC< CT (p<0,05)</p> <p>2. DIVERSIDAD Alfa: DM (-0,03) vs CT (-0,03): (p>0,05) Beta: Unifrac distance CC: 0,6 vs CT: 0,5 (p<0,05)</p> <p>3. RELACIÓN DM- Microbiota. DM: ↓ <i>Prevotella</i> ↑ <i>Bacteroidetes</i></p>
Cinek O et al.	Casos y Controles Niños y adolescente 9 a 16 años 7H/11M	Filo, Clase, Género y Especie	<p>1. ABUNDANCIA Clase: <i>Actinobacteria</i> y <i>Bacteroidia</i> CC <CT ND (p<0,05) Especie: <i>Bacteroides vulgatus</i>: CC (0,1%) <CT (10%) (p<0,05) <i>Bacteroides caccae</i>: CC (0,03%) < CT (3%) (p<0,05) <i>Bifidobacterium catenulatum</i>: CC (0,03%) < CT (2%) (p<0,05)</p>

				<p><i>Bifidobacterium bifidum</i>: CC (0%) < CT (0,1%) (p<0,05)</p> <p>2. DIVERSIDAD Alfa: CC ND vs CT (p>0,05) Beta: No se han encontrado agrupaciones</p> <p>3. RELACIÓN DM- Microbiota. DM: Especie: ↓ <i>B. dorei</i>, <i>B. vulgatus</i> ↑ autoinmunidad islotes pancreáticos. (p<0,05)</p>
Pinto E et al.	Casos y Controles Niños 9,3±1,5 años 9,3±0,6 años 2H/4M	Proteínas Filo, Género y Especie		<p>1. ABUNDANCIA Proteínas Bifidobacterianas :CC < CT 3,3 (p<0,5) Proteínas <i>Eubacterium rectale</i>, <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> y <i>Bacteroides dorei</i> CC ND> CT Recuento especies <i>Bifidobacterium</i> spp CC: 10.50±0.50 vs CT: 9,30±0,41 (p> 0,05)</p> <p>2. DIVERSIDAD General: Fisher: CC < CT (ND (p < 0,0001)</p> <p>3. RELACIÓN DM- Microbiota DM: ↑ proteínas <i>Bacteroides dorei</i>, ↑ riesgo DM1 DM: ↑ de fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (FP2_13680) ↑<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> y ↓ sustratos glicolíticos (p<0,0001)</p>
Carlos Fernández- García J et al.	Casos y Controles Niños y Adolescentes 12.56 ± 3.59 años 14H/14M	Filo, Familia y Género		<p>1. ABUNDANCIA Filo: <i>Bacteroidetes</i>: CC>CT (p<0,05) Filo: <i>Firmicutes</i>: CC<CT (p<0,05)</p> <p>2. DIVERSIDAD Alfa Chao: CC (199.42 ± 52.26) vs CT (218.65 ± 51.05) CC vs CT (p>0,05) Shannon: CC (4.76 ± 0.42) vs CT (5.16 ± 0.33)</p>

Beta

PCoA: CC vs CT (p<0,05)

3. RELACIÓN DM- Microbiota

DM: ↓F/B, ↑ niveles HbA1c

Género: ↓ *Ruminococcus*, ↑ niveles HbA1c (p<0,05)

Harbison JE et al.	Cohortes Niños Media 10,9 años 41H/ 47M	Filo, Familia, Género y Especie	1. ABUNDANCIA Filo: <i>Tenericutes</i> DM < CT (p <0,05) Familia: <i>Ruminococcaceae</i> DM < CT (p<0,05) Género: DM < CT (p < 0,05) 2. DIVERSIDAD Alfa: CC: riqueza = 75 vs CT: riqueza = 90 CC < CT (p<0,05) Sp Inv: CC vs CT (p>0,05) Beta: CC vs CT (p>0,05) 3. RELACIÓN DM- Microbiota DM: Género ↓ <i>Prevotella</i> y <i>Butyricimonas</i> , ↑permeabilidad intestinal (p<0,05)
Traversi D et al.	Casos y Controles Niños 8.23±1.42 años 7.87±1.72 años 68H/28M	Filo, Clase, Orden, Familia, Género y Especie	1. ABUNDANCIA Familia Rikenellaceae, Barnesiellaceae, Lachnospiraceae: CC>CT (p<0,05) Especie <i>Prevotella copri</i> , <i>Ruminococcus bromii</i> : CC>CT (p<0,05) 2. DIVERSIDAD Alfa: DM vs CT (p>0,05) Beta: CC>CT (p<0,05) 3. RELACIÓN DM- Microbiota

DM: Filo ↑ *Firmicutes* y ↓ *Bacteroidetes*, ↑ riesgo DM1 (p<0,05)
 Género ↑ *Bifidobacterium*, ↓ riesgo DM1 (p<0,05)

Biassoni R et al.	Cohortes Niños y Adolescentes 10.3±4.1 años 31H/21M	Filo, Clase, Orden, Familia, Género y Especie	<p>1. ABUNDANCIA Clase: <i>Gammaproteobacteria</i>: DM >CT (p<0,05) Filo: <i>Bacteroides</i>, <i>Synergistetes</i>: DM >CT (p<0,05)</p> <p>2. DIVERSIDAD Alfa: Sh y Sp: DM (p>0,05) Fisher: DM (p<0,05) Beta: Bray-Curtis: DM vs CT (p<0,05)</p> <p>3. RELACIÓN DM- Microbiota DM: Género ↑ <i>Klebsiella</i> y <i>Coprobacter</i>, ↑ glucemia (p<0,05)</p>
Liu X et al.	C Y CC Niños y Adolescentes 6 a 14 años 45H/53M	Filo, orden, familia, género y especie	<p>1. ABUNDANCIA Relación F/B: DM 0,7 vs CT 0,58 (p<0,05) Orden, familia y género: DM (ND) > CT (p<0,05)</p> <p>2. DIVERSIDAD ALFA: DM sh: 4 vs CT 3,3 (p<0,05) BETA: DM curva 165 > CT 140 (p<0,05)</p> <p>3. RELACIÓN DM- Microbiota. DM: filo ↓ <i>Bacteroides</i> ↑ GF (p<0,05) Biomarcadores encontrados: <i>Bacteroides ovatus</i>, <i>the Eubacterium hallii group</i>, y <i>Anaerostipes hadrus</i>.</p>

DM: casos de riesgos de diabetes; CT: controles sanos, C-CC: distancia de diversidad beta, Sp: índice Simpson, Sh: índice Shannon ND: No hay datos, Sp Inv: Simpson inversa, ↑: aumentado, ↓: disminuido, GF: glucemia en ayunas