Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

IMPACTO DEL MICROBIOMA INTESTINAL HUMANO EN LA DIABETES

Autor: Paloma Razola López

Tutor: Carmina Rodríguez Fernández

Convocatoria: Junio 2016

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

RESUMEN

Los avances en los últimos años sobre el conocimiento del microbioma, están teniendo consecuencias revolucionarias en la percepción de su protagonismo en la biología humana. Las investigaciones en los campos de la fisiología gastrointestinal, la dieta, la inmunidad innata y los mecanismos de virulencia de bacterias entéricas ponen de relieve el carácter multifactorial de diversas patologías y su relación con el microbioma y su disbiosis.

Recientemente se ha desarrollado el paradigma del *microbioma intestinal* como desencadenante de diversas alteraciones metabólicas como la *diabetes*, la *obesidad* y el *síndrome metabólico*. Estas enfermedades se están convirtiendo en un problema sanitario de repercusión mundial. La diabetes es una enfermedad inflamatoria crónica con alta mortalidad caracterizada, en general, por hiperglucemia y déficit de insulina. Existen evidencias de que los perfiles funcionales bacterianos de la microbiota intestinal cambian en función de diversos factores y patologías. Así, *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, los dos phyla bacterianos más abundantes en el intestino, modifican su abundancia relativa y son usados como marcadores de disbiosis.

En la diabetes de tipo 1 autoinmune, hay aumento de *Bacteroides* y disminución de bacterias productoras de butirato, respecto a los individuos sanos. En la diabetes de tipo 2, o diabetes mellitus, disminuyen *Firmicutes* y *Clostridia*, y aumentan *Betaprotobacteria* y la ratio *Bacteroides* vs *Firmicutes*.

En este Trabajo de Fin de Grado se analiza el impacto que el microbioma intestinal humano tiene en los distintos tipos de diabetes y sus posibles repercusiones terapéuticas.

1. Introducción y antecedentes. Objetivos.

El conocimiento del microbioma humano (la totalidad de los genomas de todos los microorganismos que componen la microbiota del cuerpo humano) está teniendo consecuencias revolucionarias en la percepción del protagonismo de esta microbiota en la biología humana y en la salud [(1)]. Las potentes técnicas moleculares de secuenciación masiva y la evolución de la bioinformática, así como los métodos de metagenómica independientes del cultivo han puesto de manifiesto una diversidad microbiana sin precedentes, especialmente en el intestino humano [(2)]. La superficie de la piel, las mucosas respiratorias, el tubo digestivo y el sistema urogenital se encuentran colonizados por microorganismos y constituyen la microbiota humana (bacterias, arqueas, virus y algunos eucariotas unicelulares). Se estima que 10^{14} microorganismos residen en el cuerpo humano [(3)]. El tracto

gastrointestinal es el mayor compartimiento microbiano de nuestro cuerpo, con más de 100 trillones de microorganismos y más de 1 000 especies microbianas comensales diferentes [4,5]

Los avances en los últimos años en los campos de la fisiología gastrointestinal, la dieta, la inmunidad innata y los mecanismos de virulencia de bacterias entéricas ponen de relieve el carácter multifactorial de diversas patologías y su relación con la microbiota humana, así como su interacción con el hospedador (Figura 1). Hay evidencias de que la alteración de dicha microbiota (*disbiosis*) podría estar implicada en muchas enfermedades[6] y diversas patologías crónicas, como la obesidad o la diabetes [7, 8, 9, 10].

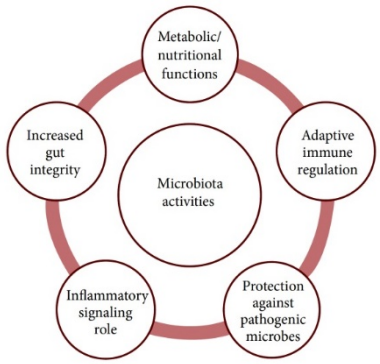

Figura 1. Diferentes vías de interacción entre la microbiota y el hospedador [10]

Las enfermedades metabólicas como la diabetes o la obesidad, se están convirtiendo en un problema sanitario de gran repercusión en todos los países[11]. Según la Organización Mundial de la Salud, en el mundo hay más de 347 millones de personas con diabetes. Más del 80% de las muertes por diabetes se registran en países de ingresos bajos y medios. Finalmente, se estima que entre 2005-2030 la mortalidad por diabetes se podría duplicar [12].

La diabetes es una enfermedad crónica de tipo metabólico. Hay dos tipos de esta enfermedad:

- La diabetes de tipo I, es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por la destrucción de las células β del páncreas, por lo que no se secreta insulina. Este tipo suele aparecer antes de los 20 años y es necesaria la administración de insulina desde su diagnóstico. Debido a la ausencia de insulina, los niveles de glucagón se elevan por encima de los niveles normales. El hígado se encuentra en un estado gluconeogénico y cetónico constante, inhibiendo la glucólisis. La elevada relación glucagón/insulina promueve la ruptura de glucógeno. Como consecuencia de todos estos procesos los niveles sanguíneos de glucosa son muy elevados respecto a la glucosa ingerida [13].
- La diabetes de tipo II, es también conocida como diabetes mellitus (DM). Este tipo de diabetes se debe a dos posibles causas: baja secreción de insulina, o bien la insulina no es utilizada de forma apropiada por los diferentes órganos. En la DM se elevan los niveles de glucosa como consecuencia de la disfunción de la glucólisis. En general, la padecen personas de mediana edad, y en muchos casos está asociada a obesidad [13]. Su sintomatología es conocida por las tres P: poliuria, polidipsia y polifagia.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Las alteraciones del metabolismo producido por la diabetes: a) Metabolismo glucídico. El glucagón está aumentado, por lo que hay una producción de glucosa constante. No hay efectos insulínicos. b) Metabolismo lipídico, produce una cetoacidosis. c) Metabolismo proteico. A largo plazo puede llegar a producir microangiopatías y neuropatías.

- Los **objetivos** que se persiguen en este trabajo de Fin de Grado son:
  - Analizar la relación de la microbiota intestinal humana y su *disbiosis* con los distintos tipos de diabetes
  - Este estudio integra diversas aproximaciones: bioquímica, fisiológica, biológica, farmacológica y especialmente microbiológica.

2. Metodología

Se trata de una Revisión Bibliográfica. En su desarrollo se ha analizado información de revistas de divulgación científica, artículos científicos, consultados a partir de distintas fuentes:

PubMed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/)
Med Line (https://www.nlm.nih.gov/bsd/pmresources.html)
Web of Science (https://login.webofknowledge.com)
Bucea (http://biblioteca.ucm.es) Cisne (http://cisne.sim.ucm.es)
Google Scholar (https://scholar.google.co.in/schhp?hl=en)
Elsevier (www.elsevier.com); Science Direct (http://www.sciencedirect.com)

Las palabras clave de búsqueda fueron: *microbiome, human microbiome, human microbiota, diabetes, microbiota diabetes, gut microbiota diabetes, intestinal microbiota diabetes, microbiota diabetes obesity, gut microbiota diabetes review, microbiota diabetes nature, microbiota diabetes diet, gut human microbiome project, microbioma reviews disease microbiome, intestinal microbiome.*

En PubMed: human gut microbiome OR gut microbiota AND diabetes [TI], además de: Review, Free Full text, Clinical trial.

("gastrointestinal microbiome"[MeSH Terms] OR ("gastrointestinal"[All Fields] AND "microbiome"[All Fields]) OR "gastrointestinal microbiome"[All Fields] OR ("gut"[All Fields] AND "microbiome"[All Fields]) OR "gut microbiome"[All Fields]) OR ("gastrointestinal microbiome"[MeSH Terms] OR ("gastrointestinal"[All Fields] AND "microbiome"[All Fields]) OR "gastrointestinal microbiome"[All Fields] OR ("gut"[All Fields] AND "microbiota"[All Fields]) OR "gut microbiota"[All Fields]) AND ("diabetes mellitus"[MeSH Terms] OR ("diabetes"[All Fields] AND "mellitus"[All Fields]) OR "diabetes mellitus"[All Fields] OR "diabetes"[All Fields] OR "diabetes insipidus"[MeSH Terms] OR ("diabetes"[All Fields] AND "insipidus"[All Fields]) OR "diabetes insipidus"[All Fields]) NOT gut[AU] AND (Review[ptyp] AND "loattrfree full text"[sb])

Además se ha consultado libros de texto de Microbiología, Bioquímica e Inmunología.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

3. Resultados y discusión.

3.1. Microbioma intestinal

El microbioma intestinal del cuerpo humano, posee una población elevadísima de bacterias. Se estima que el número de genes del microbioma intestinal excede 10-100 veces el del genoma humano y ejerce una influencia considerable en el hospedador [14].

La composición del microbioma intestinal es variable entre individuos, según el sexo, la edad, la raza y particularmente varía en función de la dieta [14].

La colonización del organismo por parte de las bacterias se inicia incluso antes del momento de nacer, ya que ciertas bacterias son capaces de superar la barrera placentaria. Algunos estudios sugieren que el desarrollo embrionario no se produce en un ambiente estéril, si no que existen microorganismos en el líquido amniótico[15, 16]. Las bacterias se adquieren a partir de la madre por vía oral, cutánea, vaginal y mamaria[17, 18]. Recientemente, se ha propuesto la transmisión de bacterias entéricas presentes en la leche materna a través de una nueva vía entero-mamaria[19] (Figura 2).

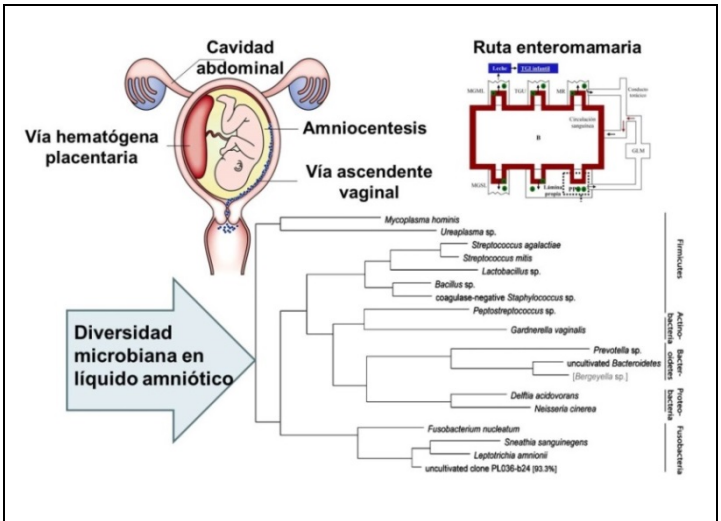

Figura 2. Transmisión intrauterina de la microbiota[15, 16, 19].

El intestino del neonato es estéril o tiene muy pocos microorganismos. El primer análisis del meconio muestra ausencia de virus y muy baja diversidad bacteriana. La microbiota inicial depende del tipo de nacimiento (parto natural, cesárea, a término o prematuro), alimentación con leche materna o de fórmula, administración de antibióticos, exposición a agentes infecciosos, vacunas, etc. (Figura 3). Esta población microbiana inicial es clave en el desarrollo de la microbiota

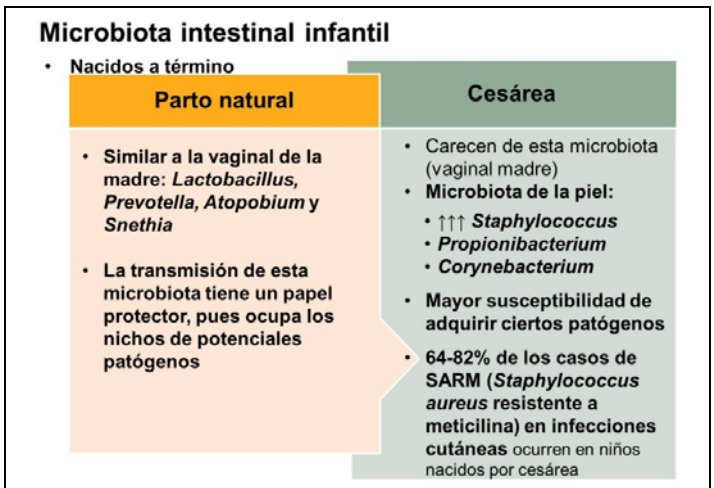

Figura 3. Diferencias de la microbiota intestinal infantil, en función al parto [Modificado de 25].

estable del adulto [20].

Tras un año, la microbiota ya está formada casi definitivamente y solo sufrirá cambios con la dieta, la edad, situaciones de estrés, uso de antibióticos, otras infecciones y patologías, factores internos como el pH intestinal, las interacciones microbianas y factores fisiológicos, entre los que se incluye los movimientos peristálticos, ácidos biliares, las secreciones del hospedador, la terapia medicamentosa y los receptores de la mucosa bacteriana [21, 22, 23, 24, 14] (Figura 4).

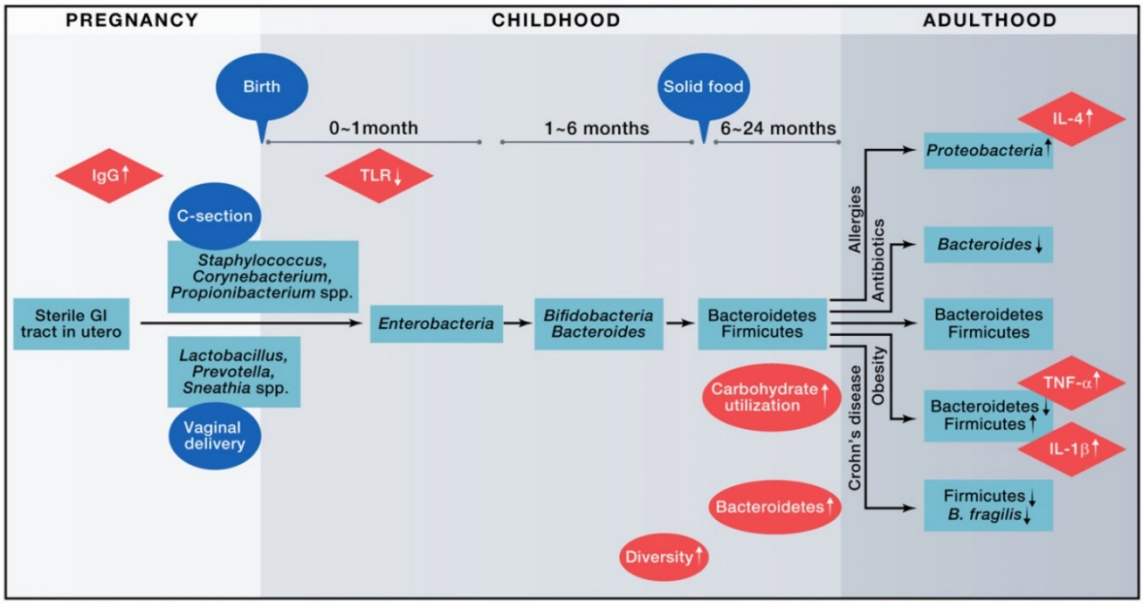

Figura 4. Desarrollo de la microbiota intestinal humana [24].

Los primeros colonizadores son generalmente bacterias aerobias y anaerobias facultativas, ya que el intestino inicialmente contiene oxígeno. Después son remplazadas por anaerobias estrictas, que son las bacterias mayoritarias de la microbiota intestinal de los adultos [24].

El microbioma intestinal cambia a través de tracto gastrointestinal (Figura 5) [26].

En individuos sanos, la microbiota intestinal, se compone de 10 phyla bacterianos, siendo los más abundantes: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*,

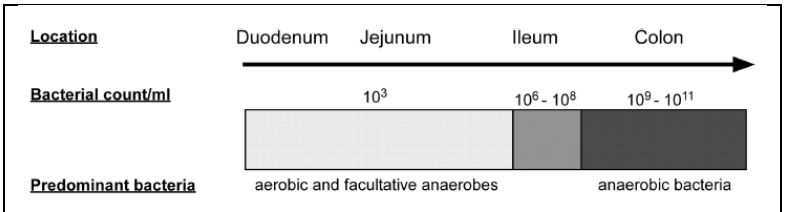

Figura 5. Diagrama de los cambios de las poblaciones bacterianas en el tracto gastrointestinal [26]

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Actinobacteria, Fusobacteria, Verrucomicrobia [27]. Las divisiones dominantes son miembros de *Bacteroidetes* y *Firmicutes* (90% del total de la microbiota intestinal) [28] (Figura 6).

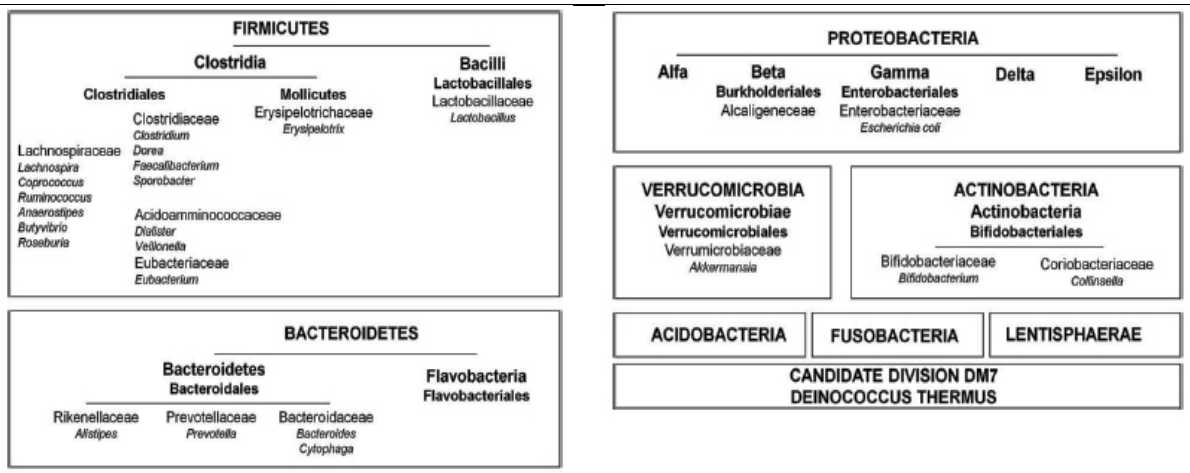

Figura 6. Microbiota intestinal bacteriana [28].

Diversos factores, como la dieta, inducen cambios en la composición de la comunidad microbiana, en el metabolismo y en la transcripción génica funcional, por lo que el hospedador queda expuesto a metabolitos microbianos y antígenos, que en los factores que producen enfermedad [26], siendo desencadenante de enfermedades de tipo metabólico como la diabetes.

3.1.1. Mecanismos por los que la microbiota intestinal influye en la hiperglucemia.

En los últimos años se ha desarrollado el paradigma de que la microbiota intestinal puede ser un factor ambiental clave para el desarrollo de alteraciones metabólicas como la *diabetes*, la *obesidad* y el *síndrome metabólico*.

En la actualidad, se proponen tres hipótesis que explicarían cómo la microbiota intestinal (o su alteración) influye en el metabolismo glucídico, la elevación de los niveles de glucosa en sangre, la resistencia a la insulina y el almacenamiento de grasa.

- *Hipótesis de la higiene*: sugiere que la interacción con agentes patógenos es importante para modular el sistema inmunitario y promover la "auto-tolerancia", especialmente en los primeros meses de vida. Algunos estudios realizados en ratones concluyen que la exposición a antígenos bacterianos o infecciones víricas intestinales, durante los primeros meses de vida, previenen la diabetes mellitus. La incidencia de diabetes en el modelo murino se reducía cuando en la microbiota intestinal predominaban las bacterias Gram positivas formadoras de esporas (*Bacillus cereus*) [10, 29].

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

- *Hipótesis de almacenamiento*: experimentos se realizados con ratones libres de patógenos, y colonizados respectivamente con la microbiota procedente de un ratón obeso o con la de otro no obeso, demostraron que sólo el primero desarrollaba obesidad [11, 30].
- *Hipótesis inflamatoria*: la diabetes (y la obesidad) son enfermedades inflamatorias y se sabe que el tipo de microbiota puede proteger o favorecer la permeabilidad de la pared inestinal, con translocación de endotoxinas de origen microbiano (lipopolisacárido de bacterias Gram negativas, LPS), que favorecerían un entorno proinflamatorio importante para el desarrollo de la resistencia a la insulina, la obesidad o la enfermedad cardiovascular.

Además, alteraciones en la microbiota pueden activar tanto la respuesta inmunitaria innata como la adaptativa. Ambas respuestas promueven un estado inflamatorio, contribuyendo a la aparición de diabetes [11].

3.2. Diabetes de tipo 1

La diabetes de tipo 1 (DT1), como se ha mencionado en la introducción, es una enfermedad de tipo autoinmune, en la que participan múltiples componentes de la respuesta innata y adaptativa del sistema inmunitario. Los linfocitos T CD8+ se encargan de reconocer y destruir las células infectadas. Los linfocitos T CD8+ infiltrados en los islotes de Langerhans del páncreas, poseen una especificidad exclusiva frente a los autoantígenos de los islotes, lo que prueba su naturaleza autorreactiva. Los linfocitos T autorreactivos conducen a la destrucción de las células β tanto en pacientes con DT1, como en individuos sin diabetes u otras enfermedades autoinmunes. Entre los principales auto-anticuerpos relacionados con la diabetes y que se detectan antes de la aparición de los síntomas clínicos, se encuentran:

- Insulina/proinsulina
- Ácido glutámico descarboxilasa (GAD65)
- Tirosina fosfatasa similar a la proteína IA-2 (*like-protein*)
- Proteína relacionada con la subunidad catalítica de la glucosa 6-fosfatasa específica de los islotes (IGRP)
- Trasportador 8 de Zn (ZnT8)

Las variaciones genéticas del Antígeno Leucocitario Humano (HLA), son los primeros determinantes de la susceptibilidad genética de la diabetes de tipo 1 entre el 50-60%. El 40% restante son genes no relacionados con HLA. A pesar de que estos genes están relacionados con la predisposición a la enfermedad, menos del 10% desarrolla la enfermedad clínica.

En la diabetes de tipo 1, la detección serológica de auto-anticuerpos frente a los islotes de Langerhans es precedida por la inflamación de las células β secretoras de insulina. Este estado proinflamatorio podría estar relacionado con una infección vírica crónica en los islotes

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

pancreáticos, factores dietéticos o inflamación intestinal debido a cambios en la microbiota[10].

Además, estudios recientes sugieren que los Toll-like Receptors (TLRs) influyen en el desarrollo de la DT1 modulando la respuesta inmunitaria, seguido de la destrucción de las células β. Ratones diabéticos-no obesos (NOD) libres de patógenos que carecen del adaptador de proteínas MyD88, no desarrollan DT1. MyD88 es una proteína adaptador universal utilizada por la mayoría de los TLRs para activar la transcripción del factor NF-κB (clave en la regulación de la respuesta inflamatoria y enfermedades autoinmunes). TLR2, TLR3, y TLR4 son prescindibles para el desarrollo de la DT1, cuando se eliminan individualmente existe un efecto de protección completa frente a la diabetes asociada a la pérdida de la respuesta primaria de diferenciación mieloide del gen 88 (MyD88). Estos resultados indican que la señalización a través de los receptores TLRs -que usan como adaptador al MyD88- es crítica para el desarrollo de la DT1; y las células T autoinmunes pueden afectarse sistemáticamente [31,3, 10].

3.2.1. Relación de la diabetes de tipo 1con la microbiota intestinal humana

Actualmente se acepta que la microbiota intestinal ejerce una función significativa en la patogénesis del síndrome metabólico, confirmado por estudios realizados en modelos humano y animal[32]. En particular, la relación entre la DT1 y el microbioma se estudió inicialmente en modelos murinos (ratas BioBreeding -BB- y ratones NOD)[33, 34, 35] y se basa en la hipótesis de la higiene. En **ratones NOD** libres de patógenos no aumenta la incidencia de diabetes autoinmune, aunque se acelera la insulinitis (infiltración inflamatoria de los islotes de Langerhans). Vaarala, O. (2012, 2013) relaciona el microbioma intestinal con la regulación de la inflamación de los islotes pancreáticos. La diferencia entre los ratones que desarrollan diabetes y los que no la desarrollan es la proporción de *Bacteroidetes*, superior en los diabéticos. Los ratones resistentes a diabetes poseen más *Firmicutes* (*Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* y *Eubacteriaceae*), respecto a los grupos que padecen la enfermedad [31, 36].

Por otra parte, en estudios realizados con **niños** con anticuerpos positivos contra las células β, se incrementa la ratio *Bacteroidetes* vs *Firmicutes*. Además se observa que en el grupo control (respecto al grupo enfermo) aumentan *Eubacterium* y *Faecalibacterium*. A pesar de que los *Firmicutes* sean más numerosos en el grupo *control* de niños (respecto de los diabéticos), excepcionalmente son muy abundantes algunas especies de *Bacteroidetes*: *Bacteroides vulgatus* y *Bacteroides fragilis*[31, 36]. En niños con *diabetes* aumentan los *Bacteroidetes*, análogamente a lo observado en modelos murinos. Además, se ha visto que

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

algunas especies se incrementan significativamente antes incluso del desarrollo de la autoinmunidad. Así, *Bacteroides dorei* y *B. vulgatus* predominan en el microbioma de niños con predisposición genética a la DT1[37].

El microbioma intestinal de individuos pre-diabéticos o con DT1 es diferente al de los sanos: predominan *Bacteroidetes*, bacterias productoras de butirato, se reducen la diversidad bacteriana y metabólica y menor estabilidad en la comunidad microbiana. Sin embargo, estos cambios parecen producirse después de la aparición de los autoanticuerpos, lo que sugiere que la microbiota podría estar implicada en la progresión de la "autoinmunidad de las células β" a las "manifestaciones clínicas" [38].

En general, los géneros más abundantes en personas sanas son *Faecalibacterium* sp., *Roseburia* sp., y *Bacteroides* sp. No obstante, recientemente se ha descrito que la microbiota y los perfiles funcionales bacterianos son comparables en personas sanas y pacientes con una DT1 con buen control glucémico y buen estado físico [39].

La presencia de *Lactobacillus* en heces es beneficiosa frente al desarrollo de la DT1. Específicamente dos especies, *Lactobacillus johnsonii* y *Lactobacillus reuteri*, previenen el desarrollo de la DT1[11]. Concretamente *L. johnsonii* (en la microbiota intestinal nativa) disminuye las proteínas de la mucosa del hospedador, la respuesta al estrés oxidativo y los niveles de la citokina proinflamatoria INF-γ[10, 40, 29]. También es importante señalar la modulación de la biota intestinal como consecuencia del tratamiento con antibióticos, lo que incide en el comienzo de la diabetes autoinmune [31].

La función de la microbiota intestinal como reguladora de la DT1, está experimentalmente avalada por los estudios realizados con ratones NOD que carecen MyD88. Dichos ratones no desarrollan DT1 y se producen cambios claros en la composición de su microbiota. Aumentan las especies de las familias *Lactobacillaceae*, *Rikenellaceae* y *Porphyromonadaceae*, comparado con la microbiota de ratones NOD heterocigóticos para MyD88[8] (Figura 7).

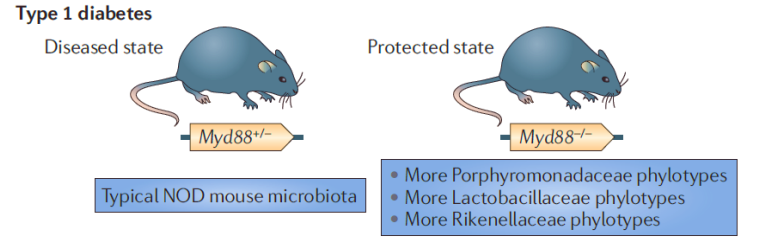

Figura 7. Gen 88 de la respuesta primaria de diferenciación mieloide MyD88[8]

3.2.2. Baja producción de butirato y autoinmunidad de las células β.

El butirato es un ácido graso de cadena corta con acción antiinflamatoria, y es producido por bacterias. Contribuye a mantener la salud del colon; disminuye el transporte

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

bacteriano a través de los epitelios metabólicamente alterados; mejora la barrera intestinal incrementando la unión entre las uniones delgadas e induce la síntesis de mucina, glucoproteína que mantiene la integridad del epitelio intestinal. Los niveles de butirato regulan la síntesis de mucina, ésta a su vez mantiene la integridad intestinal y previene la diabetes [41, 10].

El lactato se puede metabolizar a butirato y a ácidos grasos de cadena corta. Por tanto es importante mantener un adecuado balance de butirato y ácidos grasos para la salud.

En la microbiota de niños con autoinmunidad frente a las células β, están disminuidas las especies productoras lactato y butirato: *Bifidobacterium adolescentis, Ruminococcus faecis* y *Faecalibacterium prausnitzii*. La primera es una bacteria que utiliza acetato y butirato, mientras que las otras dos utilizan acetato y producen butirato. Particularmente *B. adolescentis* y *B. pseudocatenulatum*, se asocian con este tipo de autoinmunidad. En otros estudios también se encontró *Eubacterium hallii*, bacteria que utiliza lactato y acetato, y produce butirato. *E. hallii* está inversamente relacionada con los autoanticuerpos de las células β [31, 36].

Las bacterias productoras de lactato: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* y *Streptococcus*, son más abundantes en casos de diabetes. El lactato puede ser metabolizado tanto a butirato, como a otros ácidos grasos de cadena corta con menos efectos beneficiosos. El balance entre las distintas bacterias que usan el lactato como sustrato en el metabolismo de los ácidos grasos de cadena corta, es de importancia para el mantenimiento de la salud [31, 36].

Como conclusión, las bacterias productoras de butirato contribuyen a mantener la salud intestinal por sus efectos beneficiosos sobre la integridad intestinal [41, 42].

3.2.3. Interacciones entre la dieta, las infecciones entéricas, la microbiota intestinal y el uso de antibióticos.

Existen evidencias experimentales de que los perfiles funcionales bacterianos de la microbiota intestinal cambian en función de diversos factores y se asocian a varias patologías, como la autoinmunidad de las células β (Figura 8). Además, las interacciones entre los distintos componentes (bacterias y virus) de la microbiota regulan su función y se modifican en disbiosis. En un modelo animal de diabetes inducida por virus (*Kilhan rat virus*) (MADIV), se realizaron varios experimentos. Por una parte, en MADIV se observó un incremento transitorio de *Bifidobacterium spp.* y *Clostridium spp.* en heces respecto de los controles. Por otra parte, en el mismo modelo MADIV tratado con antibióticos (trimetoprim y sulfametoxazol), respecto del control murino MADIV sin tratamiento, disminuía la

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

inflamación de las placas de Peyer y de los nódulos linfáticos inducida por la infección vírica, y protegiendo a las ratas de insulinitis y de diabetes autoinmune[31, 36]. Estos resultados sugieren que la interacción entre virus entéricos y bacterias en la microbiota, podría ser importante en el desarrollo de DT1.

Las infecciones pueden llevar al desarrollo de diabetes de tipo 1. El tratamiento con antibióticos, especialmente de amplio espectro, produce cambios a nivel de la biota intestinal (disbiosis), e incluso toxicidad en las células β del páncreas. La microbiota "sana o normal", a pesar de que no existe un consenso en cuanto al concepto y composición de la misma, se asocia con abundancia de *Bifidobacterium spp.* y ciertas bacterias de ácido láctico (LAB) como *Lactobacillis spp.* y *Lactococcus spp.*, como se ha mencionado anteriomente. Estas bacterias son extremadamente sensibles a macrólidos, quinolonas y penicilinas. Por ello, la adquisición y composición de la microbiota inicial, se ve afectada tanto por antibioterapia materna como durante los primero años de vida del niño.

Además por las similitudes estructurales entre las bacterias y las mitocondrias humanas, la exposición a macrólidos y quinolonas, pueden inhibir la síntesis mitocondrial del DNA y de las enzimas de las células β, provocando la muerte de dichas células [43]. Los macrólidos son lipofílicos y se concentran en los tejidos grasos del cuerpo, en niveles que exceden a los del plasma [44]. Las quinolonas forman complejos con el calcio que se almacena en los huesos [45]. Cuando hay una movilización de las grasas, o una remodelación ósea en circunstancias especiales como el embarazo o la lactancia, estos compuestos aumentan sus niveles y atraviesan la barrera placentaria, afectando al feto. El uso de estos antibióticos durante 12 meses previos al embarazo, parece estar relacionado con DT1 en niños [43]. Un estudio con ratones NOD tratados con vancomicina en el momento de la concepción, mostró un aumento de *Escherichia*, *Lactobacillus* y *Studella* en su microbiota, mientras que los miembros del orden *Clostridiales* y de las familias *Lachnospiraceae*, *Prevotellaceae* y *Rikenellaceae*

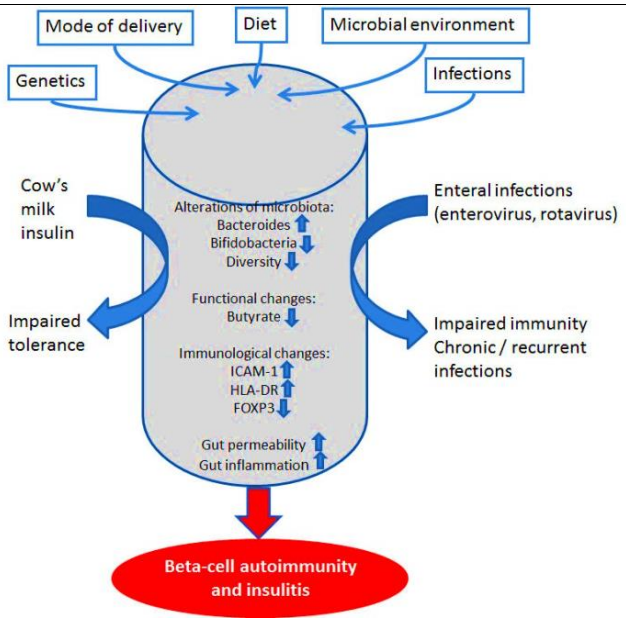

Figura 8. Interacciones entre la microbiota intestinal, el hospedador, el medio ambiente, y los mecanismos en el desarrollo de la autoinmunidade las células β [31]

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

disminuían en comparación con los grupos control. Después del nacimiento y en la vida adulta, se incrementó la incidencia de DT1 en los tratados con vancomicina [46].

3.3. Diabetes de tipo 2

La diabetes de tipo 2 (DT2), es clasificada comúnmente como diabetes mellitus (DM). Si bien existe cierta predisposición genética que puede influir en el desarrollo de la DT2, son más importantes algunos factores de riesgo como la obesidad, la edad avanzada, la falta de actividad física, la hipertensión y las dislipidemias. La enfermedad se relaciona como un estado de inflamación crónico de bajo grado, principalmente debido a un estado proinflamatorio causado por una sobrenutrición (obesidad), a través del estrés oxidativo y las altas concentraciones de mediadores inflamatorios como el TNF-α e IL-6, que son expresados por los adipocitos [10].

3.3.1. Relación de la diabetes de tipo 2 con la microbiota intestinal humana.

La cuestión principal reside en conocer el mecanismo por el cual la microbiota intestinal puede afectar a la inflamación del tejido en la DM. En diversos estudios (Figura 9) con diabéticos se ha comprobado que:

- Disminuye la ratio *Firmicutes*/*Bacteroides* [47, 27, 3, 14].
- *Firmicutes* y *Clostridia* están reducidos significativamente [8 , 3, 48, 47].
- La proporción relativa de *Bacteroidetes* y de *Betaproteobacteria* está incrementada [3,47].

Los pacientes con DM presentan una *disbiosis* moderada, con disminución de bacterias productoras de butirato y aumento de patógenos oportunistas. Especialmente disminuyen las siguientes especies:

- *Clostridium coccoides*
- *Atopobium cluster*
- *Prevotella*

Además hay un incremento significativo de *Lactobacillus*.

Type 2 Diabetes	
Firmicutes ↓	shifts in gut microbiota associated with increases in plasma glucose concentrations
Clostridia ↓	
Bacteroides-Prevotella ↑ versus *Clostridia coccoides-Eubacterium rectale* ↓	
Betaproteobacteria ↑	
Bacteroidetes/Firmicutes ratio ↑	

Figura 9: Cambios en la microbiota intestinal asociada a diabetes de tipo 2 [24].

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Las muestras fecales de un grupo control frente a un grupo de pacientes con diabetes de tipo 2, analizadas por pirosecuenciación metagenómica, muestran las mismas diferencias que los estudios por PCR de la microbiota (Figura 10). En DT2 se reduce la presencia de *Faecalibacterium prausnitzii*. *Bacteroides vulgatus* y *Bifidobacterium*[3].

Atención especial merece *Akkermansia muciniphila*, que degrada la mucina en las células intestinales. Se le atribuyen propiedades antiinflamatorias en humanos, especialmente en casos de apendicitis y síndrome de colon irritable; y recientemente se ha propuesto que podría utilizarse en obesidad y DT2. La administración de *A. muciniphila* a ratones aumenta los niveles intestinales de endocannabinoides (controlan la inflamación, la función de barrera y la secreción de péptidos intestinales). Además mejora el perfil metabólico en ratones diabéticos (DT2) [40]. En cuanto a la incidencia de la enfermedad, actualmente parece más evidente que la presencia de bacterias específicas -incluso en bajo número- es más importante que una clase particular o phyla predominante.

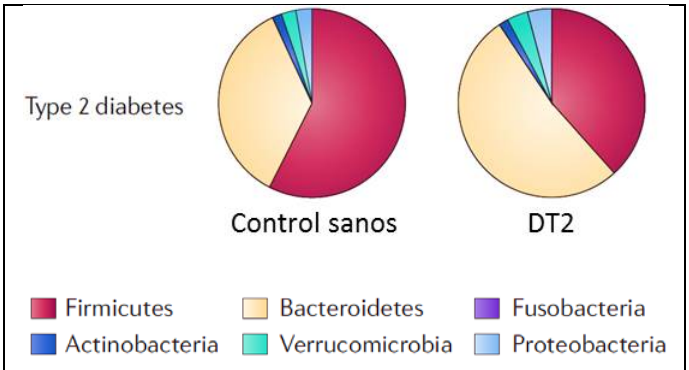

Figura 10. Disbiosis intestinal asociada a diabetes de tipo 2 [8]

3.3.2. Esteatosis hepática y la diabetes de tipo 2.

La esteatosis hepática es una de las principales complicaciones en la diabetes de tipo 2. En diversos estudios se ha observado que modelos murinos convencionales tienen un 40% más de grasa corporal que los animales libres de microorganismos, los que se ha relacionado con la microbiota intestinal. Se han propuesto distintos mecanismos moleculares en ratones:

1) El incremento de la producción intestinal de ácidos grasos de cadena corta proporciona más energía al hígado. La predisposición genética a la esteatosis hepática, en ratones, se asocia con disrupciones del metabolismo colinérgico. Este modelo no explica la inflamación hepática que se produce [11].
2) El mecanismo molecular inflamatorio podría atribuirse a los niveles plasmáticos de lipopolisacárido (LPS) bacteriano que se incrementa en pacientes con cirrosis y en la vena hepatoportal tras el consumo de alcohol. Este mecanismo depende de TLR4 e inicia la inflamación. Sin embargo, en ausencia de consumo de alcohol, se incrementan moderadamente las concentraciones de LPS en la sangre del ratón, que

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

desarrolla un hígado graso similar al desarrollado en dietas ricas en grasas. Este proceso se caracteriza por una endotoxemia metabólica, considerada como factor de inflamación. Dicha endotoxemia está relacionada con un incremento de la permeabilidad intestinal. El mecanismo inflamatorio propuesto es el siguiente: la microbiota intestinal puede incrementar la acumulación grasa en el hígado a través de un mecanismo que implica la regulación del FIAF (miembro de la familia de las proteínas angiopoyetina). El FIAF es un inhibidor de la circulación de la lipoproteína lipasa y es esencial para la supresión de la microbiota inducida por la deposición de triglicéridos en los adipocitos. En estudios con ratones diabéticos y obesos, se ha observado que el microbioma tiene aumentada la capacidad para utilizar la energía de la dieta, proporcionando al hígado más residuos de carbono generados por la fermentación bacteriana de la fibra no digerible. Por lo tanto, se ha sugerido que tras un cambio en la microbiota intestinal, tanto un aumento en la fermentación de la fibra de la dieta como la inducción de endotoxemia metabólica, conducirían a una acumulación de lípidos en el hígado y desencadenarían la inflamación. Esta hipótesis se puede relacionar con el rápido desarrollo de la esteatosis hepática, corroborando el cambio en los hábitos alimenticios y por lo tanto la microbiota intestinal [(11)].

3.3.3. Uso de antibióticos y el desarrollo de la diabetes de tipo 2 en adultos.

Boursi *et al.*, (2015) comprobaron que el uso de antibióticos de forma repetida en edades tempranas podía incrementar las posibilidades de desarrollar DT2 en la edad adulta. Del estudio con más de un millón y medio de participantes, se concluyó que aquellos que habían sido tratados repetidamente con antibióticos incrementaban la posibilidad de desarrollar diabetes. Además se hicieron estudios paralelos con antifúngicos y antivíricos, donde se comprobó que no incrementaba el riesgo para este tipo de enfermedad, esto sugiere que la modificación de la microbiota intestinal también puede contribuir al desarrollo de la DT2. La *disbiosis* debida a los antibióticos, produce la traslocación bacteriana desde el intestino al tejido adiposo, relacionándose con DT2. Una limitación de este estudio es la concomitancia de otra “patología”, ya que la mayoría de los pacientes con DT2 eran además obesos, por lo que son más susceptibles de adquirir infecciones y por tanto reciben antibioterapia con mayor frecuencia[(49, 50)].

La acción de los antibióticos en la composición de la microbiota intestinal se manifiesta incluso dos años después de la administración. Los antibióticos con estructura de tetraciclinas mejoran la tolerancia de la glucosa y la sensibilidad en ratas diabéticas y ratones obesos. Este

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

hecho se basa en la reducción del grado de inflamación, el TNF-α y el LPS. La ampicilina y el norfloxacino reducen la esteatosis hepática, se normalizan los niveles de glucosa y se incrementa la sensibilidad a la insulina. Existen distintas explicaciones. Podría ser debido a una reducción del grado de inflamación (Niveles de TNF- α y LPS negativamente correlacionados con la sensibilidad de la insulina) o a la influencia directa sobre los niveles de los ácidos grasos de cadena corta. En este último caso, se disminuye la excreción de los ácidos grasos de cadena corta por las heces. Este hecho asocia al consumo oral de antibióticos con el sobrepeso en niños, siendo uno de los factores desencadenantes de la diabetes [(51)].

4. Conclusiones

- El microbioma intestinal se adquiere en el nacimiento y varía en función de la dieta, edad, sexo, antibioterapia y factores fisiopatológicos.
- La microbiota intestinal infantil depende del tipo de parto: en parto natural -a término- es similar a la vaginal de la madre (*Lactobacillus*, *Atopobium* y *Snethia*), mientras que en la cesárea es similar a la de la piel (*Staphylococcus*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium*).
- Microbiota intestinal normal está compuesta por 10 phyla bacterianos, siendo *Bacteroidetes* y *Firmicutes* las divisiones dominantes con un 90% del total.
- Hay tres hipótesis propuestas sobre como influye microbiota intestinal en la hiperglucemia: Hipótesis de la higiene (patógeno-inmunidad), hipótesis de almacenamiento (microbiota modelo murino obeso transplantada, produce enfermedad en los modelos libres de patógenos) e hipótesis inflamatoria (estado proinflamatorio desarrolla resistencia a la insulina)
- En la diabetes de tipo 1 autoinmune, hay aumento de *Bacteroidetes*. Además hay daño intestinal por la disminución de las bacterias productoras de butirato, ya que el butirato tiene acción antiinflamatoria y ayuda a mantener la integridad intestinal.
- En la diabetes de tipo 2, o diabetes mellitus, disminuye *Firmicutes* y *Clostridia*, y aumentan *Betaprotobacteria* y la ratio *Bacteroides* vs *Firmicutes*.
- *Akkermansia muciniphila* tiene propiedades antiinflamatorias. Dichas propiedades podrían ser útiles en la diabetes.
- La microbiota intestinal aumenta la acumulación grasa en el hígado por la inflamación producida por la endotoxemia metabólica (LPS plasmático)
- En ambos tipos de diabetes, la antibioterapia, produce disbiosis a nivel intestinal. Actúan sobre las enzimas de las células β y la translocación bacteriana.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Perspectivas de futuro:

- Esclarecer si una microbiota alterada es *causa* o *efecto* de enfermedades.
- Verificar la función de los componentes hereditarios o adquiridos de la microbiota en la evolución de las enfermedades.
- Estudiar la susceptibilidad y prevención de enfermedades en relación al perfil metabólico microbiano.
- Investigar la acción de los fármacos sobre la microbiota intestinal, las disbiosis y las patologías metabólicas.
- Establecer la función que ejercen los distintos géneros microbianos en las distintas manifestaciones clínicas de las enfermedades.
- Diseñar nuevas técnicas de manipulación de la microbiota para la prevención y tratamiento de enfermedades.

5. Bibliografía

1. Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. Science 2006; 312: 1355-1359.
2. Huttenhower, C. et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature 2012; 486: 207-214
3. Harris K, Kassis A, Major G, Chou CJ. Is the gut microbiota a new factor contributing to obesity and its metabolic disorders? J Obes. 2012; 2012: ID879151: 1-14. doi: 10.1155/2012/879151. Epub 2012 Jan 24.
4. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. Annu Revn Microbiol. 1977; 31:107-133.
5. Backhed F., Ley R. E., Sonnenburg J. L., Peterson D. A., Gordon J. I.. Host-Bacterial Mutualism in the Human. IntestineScience 2005 Mar 25; 307(5717):1915-1920.
6. Prats G. Microbiología y Parasitología Médicas. 1ª Ed. 2013. Editorial Médica Panamericana.
7. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. Nature. 2006; 444: 1022-1023.
8. Spor A, Koren O, Ley R. Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. Nat Rev Microbiol. 2011; 9(4):279-290. doi: 10.1038/nrmicro2540.
9. Belizário JE and Napolitano M. Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches. Frontiers in Microbiology. 2015; 6: 1-16. doi:10.3389/fmicb.2015.01050

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

10. Leal-Lopes C, Velloso FJ, Campopiano JC, Sogayar MC, Correa RG. “Roles of Comensal Microbiota in Pancreas Homeostasis and Pancreatic Pathologies” J Diabetes Res. 2015; 2015:284680. doi: 10.1155/2015/284680. Epub 2015 Aug 6.
11. Burcelin R, Serino M, Chabo C, Blasco-Baque V, Amar J. Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective. Acta Diabetol. 2011; 48(4):257-273. doi: 10.1007/s00592-011-0333-6. Epub 2011 Oct 2.
12. Programa de la diabetes de la OMS. http://www.who.int/diabetes/es/
13. Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL. Bioquímica con aplicaciones clínicas.7ª Ed. 2013. Editorial Reverté S.A.
14. Bull MJ, Plummer NT. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. Integr Med (Encinitas). 2014; 13(6):17-22.
15. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, *et al*. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. PLOS ONE 2008; 26; 3(8):33056.
16. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. Lancet Jan. 2008; 371(9606):75–84.
17. Cho, I y Martin, Blaser, MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. Nature Reviews 2012; 13:260-270
18. González A, *et al*. Our microbial selves: what ecology can teach us. EMBO reports 2011; 12:775-784
19. Fernández L y Rodríguez JM. Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. UCM 2010
20. Nanthakumar NN, Fusunyan RD, Sanderson I, Walker WA. Inflammation in the devoloping human intestine: a possible pathophysiologic contribution to necrotizing enterocolitis. Pro Natl Acad Sci USA. 2000; 97(11): 6043-6048.
21. Dominguez-Bello, M.G. et al. Development of the Human Gastrointestinal Microbiota and Insights From High-Throughput Sequencing. Gastroenterology 2011; 140:1713-1719
22. Toward, R. et al. Effect of prebiotics of the human gut microbiota of elderly persons. Gut Microbes. 2012; 3:57-60
23. Juliette C, et al. Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2012; 97:F456-F462 doi:10.1136/fetalneonatal-2011-301373
24. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The Impact of the gut microbiota on human health: An integrative view. Cell. 2012:16; 148(6):1258-1270. doi: 10.1016/j.cell.2012.01.035.
25. Arboleya S, *et al*.Establishment and devolpment of intestinal microbiota in preterm neonates FEMS Microbiol Ecol. 2012; 79 (3): 763-772
26. Utzschneider KM, Kratz M, Damman CJ, Hullar M. Mechanisms linking the gut microbiome and glucose metabolism. J Clin Endocrinol Metab. 2016 3:jc20154251

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

27. Shen J,Obin MS,Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. Mol Aspects Med. 2013;34(1):39-58. doi: 10.1016/j.mam.2012.11.001. Epub 2012 Nov 16.
28. Tagliabue A, Elli M.. The role of the gut microbiota in human obesity: Recent findings and future perspectives. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2013; 23(3):160-168. doi10.1016/j.numecd.2012.09.002. Epub 2012 Nov 10.
29. Paun A, Yau C, Danska JS. Immune recognition and response to the intestinal microbiome in type 1 diabetes. J Autoimmun. 2016;1-9. pii: S0896-8411(16)30006-3. doi: 10.1016/j.jaut.2016.02.004.
30. Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007:16; 104(3):979-984. Epub 2007 Jan 8.
31. Vaarala O. Gut microbiota and type 1 diabetes. Rev Diabet Stud. 2012 Winter; 9(4):251-259. doi: 10.1900/RDS.2012.9.251. Epub 2012 Dec 28.
32. Festi D, Schiumerini R, *et al.* Gut microbiota and metabolic syndrome. World J Gastroenterol. 2014; 21;20(43):16079-16094. doi: 10.3748/wjg.v20.i43.16079.
33. Mordes JP, Bortell R, Groen H, Guberski DL, Rossini AA, Greiner DL. 2001. Autoimmune diabetes mellitus in the BB rat. In: Sima AAF, Shafrir E, eds. Animal Models of Diabetes: A Primer. Warsaw: Harwood Academic Publishers. p 1-41.
34. Atkinson MA, Chervonsky A. Does the gut microbiota have a role in type 1 diabetes? Early evidence from humans and animal models of the disease. Diabetologia. 2012; 55(11):2868-2877. doi: 10.1007/s00125-012-2672-4. Epub 2012 Aug 9.
35. Daft JG, Lorenzo RG. Role of the gastrointestinal ecosystem in the development of type 1 diabetes. Pediatr Diabetes. 2015; 16(6):407-418. doi: 10.1111/pedi.12282.
36. Vaarala O. Human intestinal microbiota and type 1 diabetes. Curr Diab Rep. 2013; 13(5):601-607. doi: 10.1007/s11892-013-0409-5.
37. Davis-Richardson AG, Ardissone AN, Dias R, *et al.* Bacteroides dorei dominates gut microbiome prior to autoimmunity in Finnish children at high risk for type 1 diabetes. Front Microbiol. 2014; 10; 5:678. doi: 10.3389/fmicb.2014.00678.
38. Knip M, Siljander H. The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes mellitus. Nat Rev Endocrinol. 2016;12(3):154-167. doi: 10.1038/nrendo.2015.218. Epub 2016 Jan 4.
39. Stewart CJ, Nelson A *et al*. Gut microbiota of Type 1 diabetes patients with good glycaemic control and high physical fitness is similar to people without diabetes: an observational study. Diabet Med. 2016; 21. doi: 10.1111/dme.13140.
40. Upadhyaya S, Banerjee G. Type 2 diabetes and gut microbiome: at the intersection of known and unknown. Gut Microbes. 2015; 6(2):85-92.
41. Wong JM, de Souza R, *et al*. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. J Clin Gastroenterol. 2006; 40(3):235-243.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

42. Dunne JL, Triplett EW, Gevers D, Xavier R, Insel R, Danska J, Atkinson MA. The intestinal microbiome in type 1 diabetes. Clinical & Experimental Immunology.2014, 177(1): 30-37.
43. Kilkkinen A, Virtanen SM, Klaukka T, Kenward MG, Salkinoja-Salonen M, Gissler M, Kaila M, Reunanen A. Use of antimicrobials and risk of type 1 diabetes in a population-based mother-child cohort. Diabetologia. 2006; 49(1):66-70. Epub 2005 Dec 13.
44. Foulds G, Shepard RM, Johnson RB. The pharmacokinetics of azithromycin in human serum and tissues. J Antimicrob Chemother 1990; 25(Suppl A):73–82
45. Rimmele T, Boselli E, Breilh D et al. Diffusion of levofloxacin into bone and synovial tissues. J Antimicrob Chemother 2004; 53:533–535
46. Candon S, Perez-Arroyo A, Marquet C, Valette F, *et al*. Antibiotics in early life alter the gut microbiome and increase disease incidence in a spontaneous mouse model of autoimmune insulin-dependent diabetes. PLoS One. 2015; 13; 10(5):e0125448. doi: 10.1371/journal.pone.0125448.
47. Han JL, Lin HL. Intestinal microbiota and type 2 diabetes: from mechanism insights to therapeutic perspective. World J Gastroenterol. 2014; 20(47):17737-17745. doi: 10.3748/wjg.v20.i47.17737.
48. Qin J et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. Nature. 2012 4;490(7418):55-60. doi: 10.1038/nature11450. Epub 2012 Sep 26.
49. Boursi B, Mamtani R, Haynes K, Yang YX. The effect of past antibiotic exposure on diabetes risk. Eur J Endocrinol. 2015; 172(6):639-648. doi: 10.1530/EJE-14-1163. Epub 2015 Mar 24
50. Burcelin R, Amar J. Diabetes: Antibiotics or prodiabetics? Nat Rev Endocrinol. 2015; 11(7):385-386. doi: 10.1038/nrendo.2015.75. Epub 2015 May 19.
51. Kootte RS, Vrieze A, Holleman F, *et* al. The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus. Diabetes Obes Metab. 2012; 14(2):112-120. doi: 10.1111/j.1463-1326.2011.01483.x. Epub 2011 Nov 22.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.