

## La microbiota intestinal y su rol en la diabetes.

Yolmar Valero<sup>1</sup>, Jhoana Colina<sup>1</sup>, Héctor Herrera<sup>1</sup>.

**Resumen:** La incidencia de la obesidad, los desórdenes asociados al síndrome metabólico y la diabetes tipo 2 han aumentado en la última década. Estas afecciones pueden estar influenciadas por factores genéticos, ambientales y por vías que conectan el metabolismo con el sistema inmunológico. De esta manera, se observa un metabolismo energético anormal y la inflamación crónica de bajo nivel del tejido adiposo. La incidencia de estos trastornos puede devenir de la susceptibilidad genética y cambios en el estilo de vida de cada individuo. Adicional a esto, se ha sugerido la influencia de la microbiota intestinal en la prevalencia de dichas afecciones. Datos recientes indican que la población de microorganismos residentes en el intestino, puede influir sobre la absorción de nutrientes y el almacenamiento de energía. Todo lo anterior contribuye a un balance energético positivo, consistente en un aumento del aporte energético de la dieta. Se ha relacionado su influencia en los mecanismos de inflamación y respuesta inmune asociados a dicha patología. Se hace necesario conocer con mayor certeza el papel que juega la microbiota intestinal en la aparición de la diabetes en el huésped. En esta revisión se recopilan los resultados recientes obtenidos en estudios recientes que muestran las contribuciones de la microbiota intestinal a la diabetes. Se hace necesario conocer con mayor certeza el papel que juega la microbiota intestinal en la aparición de la diabetes. *An Venez Nutr 2015; 28(2): 132-144.*

**Palabras clave:** Microbiota intestinal, diabetes, obesidad, inflamación, prebióticos y probióticos.

## Intestinal microbiota and its role in diabetes.

**Abstract:** The incidence of obesity, disorders associated with metabolic syndrome and type 2 diabetes have increased in the last decade. These conditions can be influenced by genetic, environmental factors and pathways linking metabolism to the immune system. Thus, an abnormal energy metabolism and a low level chronic inflammation of the adipose tissue is observed. The incidence of these disorders can become genetic susceptibility and changes in the lifestyle of each individual. In addition to this, it has been suggested the influence of intestinal microbiota in the prevalence of such conditions. Recent data indicate that the population of microorganisms living in the intestine, can influence nutrient absorption and energy storage. All this contributes to a positive energy balance consisting in increased energy from the diet. It has been implicated in the mechanisms influence of inflammation and immune response associated with such pathology. In-depth knowledge of the role of intestinal microbiota in the onset of diabetes in the host is required. In this review recent results obtained in studies focusing on the contributions of gut microbiota to diabetes are collected. *An Venez Nutr 2015; 28(2): 132-144.*

**Key words:** Intestinal microbiota, diabetes, obesity, inflammation, prebiotics and probiotics.

### Introducción

La diabetes tipo 2, es una patología concomitante con la obesidad, y junto al síndrome metabólico son los principales problemas de salud pública que afectan a una parte importante de la población mundial (1, 2). Se estima que en el mundo existen más de 347 millones de personas con diabetes, de las cuales 183 millones (el 50%) están aún sin diagnosticar. Más del 80% de las muertes por diabetes se registran en países de ingresos bajos y medios (3). Según proyecciones de la Organización Mundial de la Salud (3), la diabetes

será la séptima causa de mortalidad para el año 2030, con una población estimada de 438 millones de diabéticos. Este aumento de prevalencia corre en paralelo con el aumento mundial de la obesidad (4).

Las perspectivas para el continente americano no son más alentadoras. Más del 10% de la población de los EE.UU. tiene diabetes (5), entre los cuales 17,9 millones de personas presentan síndrome metabólico. Se estima que 1 de cada 3 adultos estadounidenses (36%) es obeso, así como aproximadamente 12,5 millones (17%) de los niños y adolescentes (2-19 años de edad) (2,6). Para Centro y Suramérica, la tendencia es el aumento de casos diagnosticados, llegando a casi 40 millones de personas para el año 2030 (4).

---

<sup>1</sup> Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar, Miranda, Venezuela  
Solicitar correspondencia a: Yolmar Valero Gelvis, e-mail: yvalero@usb.ve

En Venezuela, de acuerdo a la prevalencia poblacional de diabetes tipo 2 (estimada entre 5,1 y 6,0%), aproximadamente entre 1,48 y 1,73 millones de casos para los años 2010-2011, con estimaciones de 2,84 millones de casos para el año 2030 (5), proyectándose la mayor incidencia en los estados Zulia, Vargas y Mérida (4).

El desarrollo de la sociedad actual ha llevado, por un lado, a un incremento de la disponibilidad alimentaria con alimentos apetitosos y de alta densidad calórica, y por otro, a un incremento del sedentarismo, aun cuando estos cambios son difíciles de cuantificar (7). La obesidad y la diabetes son el resultado de una compleja interacción entre diversos genes y el ambiente, que se caracteriza por un desequilibrio de energía debido a un estilo de vida sedentario, un consumo excesivo de energía, o ambos (6,8).

En este sentido, investigaciones recientes han identificado a los microorganismos residentes en el intestino, conocidos en conjunto como microbiota intestinal, como uno de los factores ambientales que pueden influir en la aparición de la obesidad y la diabetes en el huésped (8, 9). Se ha sugerido que las bacterias que normalmente residen en el tracto intestinal, afectan la extracción de nutrientes y que con ello regulan el balance energético, mediante enzimas que nuestras células intestinales no poseen, optimizando la digestión de los alimentos y obteniendo un mayor rendimiento calórico (7).

En el individuo adulto, la microbiota intestinal es diversa y actúa primordialmente como una barrera que impide la multiplicación de patógenos y el desarrollo de patologías gastrointestinales (10, 11). Actualmente, es reconocida como un importante factor de conexión entre la genética, el medio ambiente y el sistema inmunológico (8).

En este sentido, se ha establecido que en el intestino humano existen más de 1.000 especies bacterianas diferentes y se presume que existe una mayor cantidad aún desconocida, que influyen de una u otra manera en la salud del huésped (7). Una mayor aproximación a esta población microbiana podría contribuir a conocer su potencial como medio terapéutico para tratar el síndrome metabólico y la diabetes (1). La aparición de la metagenómica y la aplicación de la secuenciación del gen del ARNr 16S para la detección de patógenos bacterianos y la ecología microbiana ha proporcionado una plataforma técnica completa para la evaluación de

la composición bacteriana de la microbiota humana (2).

Por todo lo dicho anteriormente, esta revisión se centra en los recientes avances en el estudio del rol de la microbiota intestinal y su relación con el metabolismo humano, el síndrome metabólico y, más detalladamente, en la diabetes tipo 2.

### Microbiota intestinal en humanos

Debido a la gran responsabilidad del sistema digestivo de separar y discriminar cuales sustancias alimentarias serán absorbidas y defenderse contra la colonización por una variedad de microorganismos patógenos, se requiere de una diversidad celular capaz de llevar a cabo tales funciones, considerándose entonces al sistema digestivo como un órgano inmunológicamente privilegiado (12, 13). Y en este sentido, la microbiota intestinal juega un rol fundamental dentro de este sistema, coexistiendo en una relación mutual, en la cual ambos se benefician.

La microbiota humana se define como el conjunto de microorganismos que viven asociados al ser humano (14). Está formada principalmente por bacterias, aunque también pueden encontrarse eucariotas, arqueas y virus (9). Se han identificado varios nichos, con características propias, entre los más importantes: la piel, la conjuntiva, la leche materna, el tracto respiratorio, la vagina, el aparato urinario, la boca y no menos importante, el intestino (14, 15). Se definen dos tipos de microorganismos asociados al cuerpo humano: la microbiota residente, que es la característica de cada región del organismo y está constituida por microorganismos que siempre están presentes en ese sector (por ejemplo: *Staphylococcus epidermidis* en la piel o *Escherichia coli* en el intestino), en cambio la microbiota transitoria es variable de un ser humano a otro y está compuesta por microorganismos que colonizan de forma intermitente una determinada región (13).

A pesar de los conocimientos actuales sobre la importancia de la microbiota intestinal en el humano, la investigación en este campo ha sido durante mucho tiempo obstaculizada por limitaciones metodológicas. Las técnicas de cultivo convencionales pueden detectar sólo aproximadamente el 30% del total de las bacterias del tracto intestinal por varias razones: los requisitos de crecimiento desconocidos para la mayoría de las bacterias, la selectividad de los medios de cultivo que se utilizan, el estrés impuesto por procedimientos de cultivo, la necesidad estricta de condiciones de anoxia,

y las dificultades con la simulación de las interacciones de las bacterias con otros microorganismos y células huésped (15).

La aparición de la biología molecular como método de estudio de la diversidad bacteriana aplicado a la microbiota humana, ha hecho posible que la visión de las bacterias como responsables de enfermedades haya cambiado. Como hemos visto, la mayoría de las bacterias asociadas al organismo no solo no son perjudiciales, sino que son necesarias para el correcto desarrollo y funcionamiento del mismo (13). La mayoría de los estudios de diversidad bacteriana están basados en el análisis de la subunidad del gen ribosomal 16S. Este gen codifica para un RNA que forma parte de la subunidad 30S del ribosoma de los procariotas. Está presente en todas las bacterias y está lo suficientemente conservado como para poder alinear de forma precisa las posiciones homólogas de unas especies con otras. También posee suficiente variabilidad en determinadas regiones como para llevar a cabo los análisis filogenéticos (16).

A pesar del hecho de que la composición específica de la microbiota puede variar de un individuo a otro, por diversas razones, ésta realiza funciones muy similares en el organismo humano (1). Existen diversos factores que van modulando la composición de la microbiota a lo largo del ciclo de vida del individuo. El tipo de parto y la lactancia materna juegan un rol importante en la estabilización de la microbiota en el humano (8, 13). Posteriormente, es influenciada por la contribución genética, la dieta y factores ambientales, dentro de los cuales destaca el uso de antibióticos. Sin embargo, aún existen factores que contribuirían a la diversidad de la microbiota en la población que no han sido aclarados (19). Si bien se reconoce que el contacto con el líquido vaginal y la leche materna son elementos claves para la colonización, se ha comprobado que la genética del sujeto contribuye a modular el perfil de microorganismos que habitarán en el intestino (12).

Se ha probado que el intestino fetal es estéril dentro del útero, colonizándose luego durante el nacimiento a través de la microbiota vaginal y ambiental (8, 18). Sin embargo, en la actualidad esta es una de las varias controversias acerca de la colonización del intestino y del origen de esa colonización inicial. Como se está observando también para otros ambientes o fluidos (pulmones, leche materna, entre otros), se ha demostrado que el tracto gastrointestinal del feto en realidad está habitado por

microorganismos. Una de las nuevas hipótesis propone que el torrente sanguíneo de la madre puede transportar los primeros microorganismos al intestino del feto (17) y estos podrían ser de particular importancia para el posterior desarrollo de la microbiota intestinal (8).

En el individuo adulto, el intestino humano está habitado por alrededor de 150 a 200 especies bacterianas prevalentes y hasta, aproximadamente, 1.000 especies bacterianas menos frecuentes (2, 10). El genoma colectivo de esta microbiota, denominado microbioma, tiene más de 5 millones de genes, es decir, 150 veces más que el propio genoma humano (2, 9).

En este sentido, se ha demostrado que la microbiota inicial del humano (la que coloniza durante los primeros meses de vida) es poco diversa y se encuentra dominada por microorganismos pertenecientes a los *phyla* *Proteobacteria* y *Actinobacteria*. Luego, en la etapa adulta, vuelve más heterogénea, y se caracteriza por la presencia de cinco *phyla* bacterianos: los gram negativos *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia*, y los gram positivos *Actinobacteria* y *Firmicutes*; y un *Archaea* (*Euryarchaeota*) (1, 15, 20, 21), distribuidos a lo largo de toda la extensión intestinal. A través de métodos moleculares, basados primordialmente en la secuenciación de genes del ARN ribosomal 16S y 18S, se ha demostrado que los *phyla* *Bacteroidetes* y *Firmicutes* constituyen poco más del 90% de las categorías filogenéticas que dominan la sección distal del intestino, el colon (9,15, 22).

La distribución de la microbiota intestinal a lo largo del tubo digestivo no es homogénea sino que sigue un gradiente próximo-distal; las concentraciones de microorganismos, bajas en el duodeno (102 a 103 UFC/g), aumentan paulatinamente en el yeyuno y el íleo (105 a 107 UFC/g) hasta alcanzar sus máximos en el colon (1012 a 1014 UFC/g) (9, 11, 15). El ciego y el colon ascendente son sede de procesos intensos de fermentación y sus poblaciones bacterianas están en continuo crecimiento y producen concentraciones altas de ácidos grasos volátiles (AGV) que llevan a un pH bajo (5,4-5,9), mientras que en el colon descendente estos procesos son menos intensos por lo cual la concentración de AGV en su lumen es menor y el pH más alto (6,6-6,9) (11). Se ha estimado que el 60% de la masa fecal está formado por bacterias (15).

Más específicamente, la colonización bacteriana comienza con bacterias facultativas, tales como *Enterobacteriaceae*,

*Enterococcus* y *Streptococcus*, seguidas por bacterias anaerobias, tales como *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, y *Eubacterium* (17). Los anaerobios estrictos comienzan a ser detectados a partir de la ingesta de sólidos en la dieta (Tabla 1) (13). Así mismo, la microbiota intestinal también puede contener protozoarios, virus y fagos, aun poco estudiados (9, 10).

La *Firmicutes* es la familia que se encuentra en mayor proporción en el intestino humano, incluye más de 200 géneros y los más importantes son los *Lactobacillus*, *Mycoplasma*, *Bacillus* y *Clostridium* (15, 19). Se adhieren a partículas de polisacárido de plantas, fibras y mucina, y son más eficientes en la fermentación de carbohidratos insolubles (23). Por su parte, los *Bacteroidetes* se encuentran en menor cantidad, incluyendo sólo 20 géneros (7, 15). Las especies de *Bacteroidetes*, que son más versátiles en la utilización de sustratos, utilizan los oligosacáridos y polisacáridos solubles que provienen de la rotura de polisacáridos insolubles (24), ya que poseen varias vías metabólicas de utilización de los mismos (2). A pesar de la alta proporción de este último filogruppo en el intestino humano, probablemente su actividad real es baja, o está relacionada con secciones del intestino más lejanas al ano (13). Es interesante mencionar que muchos estudios indican que los *Bacteroidetes* son más abundantes cuando se mantiene una dieta baja en calorías (24).

### Funciones relativas a la microbiota intestinal humana

La microbiota intestinal juega un rol importante en el mantenimiento de la funcionalidad del intestino, ya que estimula su desarrollo, mantiene el recambio epitelial, modula la respuesta inmunológica y participa en el metabolismo de algunos medicamentos (19). Desde el punto de vista nutricional, las bacterias del intestino juegan un rol crucial ya que participan en la depuración de toxinas provenientes de la dieta; síntesis de micronutrientes como vitamina K, vitamina B12 y ácido fólico; fermentación de sustancias indigeribles; absorción de electrolitos y minerales; y producción de ácidos grasos de cadena corta, los que estimulan el crecimiento y desarrollo de los enterocitos y colonocitos (1, 7, 19).

Una de las principales funciones de la microbiota intestinal es su capacidad de extraer la energía proveniente de la fibra dietética, es decir de los carbohidratos no digeribles en el intestino delgado (almidón resistente, oligosacáridos y polisacáridos), transformándolo en disponible para el organismo, en forma de energía, y evita su pérdida por las heces (1). Los mamíferos absorben carbohidratos simples en el yeyuno proximal, mediante transportadores glúcidos específicos. Las enzimas digestivas (enzimas activas de hidratos de carbono, que incluyen glucósido hidrolasas, carbohidrato-esterasas, glicosil transferasas, y liasas de

**Tabla 1. Colonización microbiana del intestino humano en diferentes etapas de la vida (10).**

Etapa	Características
Feto	Estéril.
Al nacimiento	Colonizado por bacterias ambientales; microbiota vaginal y fecal.
Recién nacido	Al inicio poca diversidad, bacterias anaerobias facultativas ( <i>Proteobacteria/Actinobacteria</i> ); progresa a mayor diversidad y dominada por <i>Firmicutes</i> y <i>Bacteroidetes</i> .
Adulto	Diversa, con microbiota individual más similar con el tiempo que a la de otros individuos, están implicados mecanismos de selección; selección positiva: factores del huésped, p.ej., glucolípidos en el epitelio, glucanos específicos en el moco del huésped; selección negativa: dieta y sistema inmune.
Adulto con enfermedad inflamatoria intestinal o diabetes tipo 2	Diversidad microbiana disminuida, en particular <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> .
Adulto con obesidad	Diversidad microbiana disminuida, en particular <i>Bacteroidetes</i> .

polisacáridos) hidrolizan los disacáridos y polisacáridos a sus unidades de monosacáridos, pero tienen limitaciones en la degradación de otros polisacáridos. De esta manera, los polisacáridos no digeribles (celulosa, xilano y pectina), además de los almidones parcialmente digeridos, son transportados a la región distal del intestino y metabolizados por la comunidad microbiana allí establecida (10).

Los *Bacteroidetes* son capaces de metabolizar fácilmente los hidratos de carbono provenientes de la dieta. Por su parte, las *Bifidobacterias* (*Actinobacterias*) contienen genes que codifican enzimas que degradan glicoconjugados (glicanos) y glicosaminoglicanos (celulosa, sulfato de condroitina, ácido hialurónico, mucinas y heparina) (2). La fermentación de estos sustratos por la microbiota intestinal libera ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acetato, propionato y butirato, en una proporción aproximada de 60-20-20, que depende de la naturaleza de la fibra (11), cuya concentración total puede alcanzar 130mM en el colon proximal. Estos AGCC luego son absorbidos, lo que permite el rescate de energía (2). En el ser humano se estima que entre 7 a 10% del aporte calórico diario proviene de este proceso (9, 25).

Mientras que el butirato es metabolizado principalmente por los colonocitos, el acetato y el propionato son absorbidos, alcanzando concentraciones de 300 a 450  $\mu\text{M}$  en la sangre portal y de 50 y 100  $\mu\text{M}$  en sangre periférica (6). Una vez captado por el hígado, el acetato sirve de sustrato preferencial para la gluconeogénesis y la síntesis de colesterol y de triglicéridos, mientras que el propionato se utiliza para la síntesis de novo de la glucosa y lípidos y sirve como fuente de energía para el huésped (2) así como también para inhibir la expresión génica de las enzimas hepáticas involucradas en esta lipogénesis de novo (11).

El reconocimiento del rescate colónico como una fuente regular y significativa de calorías para el organismo ha motivado que las instancias responsables (*Codex Alimentarius*) estén discutiendo la posibilidad de atribuir un valor energético (2 Kcal/g) a la fibra soluble presente en los alimentos (11).

Una de las formas que tiene el intestino de comunicarse con el hipotálamo, además del sistema nervioso, es mediante la secreción de hormonas que controlan el

balance energético. Son muchos los neurotransmisores y hormonas involucrados en este proceso. Existe un grupo en especial, llamadas incretinas (intestinal secretion of insulin) que son producidas por células enteroendocrinas distribuidas a lo largo del tubo digestivo, desde el estómago hasta el colon distal. Aun cuando solo constituyen el 1% de las células intestinales, el intestino es considerado como un órgano endocrino mayor. Las incretinas potencian la secreción de insulina en respuesta a la glicemia, regulándola y son responsables alrededor del 70% del nivel de insulina postprandial. Las dos más importantes son el péptido inhibitorio gástrico (GIP) y el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP1) (19).

Además de su papel en el rescate de energía, los AGCC pueden estimular receptores de ácidos grasos libres acoplados a proteína G en la mucosa del colon: el acetato activa en forma preferencial el FFAR2 (receptor de ácidos grasos libres 2), mientras que el propionato estimula tanto el FFAR2 como el FFAR3 (receptor de ácidos grasos libres 3) (9). Por medio de la estimulación del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), los AGCC modulan señales que suprimen la secreción de glucagón, induciendo la secreción de insulina dependiente de glucosa, lo que conduce a la homeostasis de la glucosa (2). Estos receptores están implicados en la regulación del apetito y del metabolismo energético. Por vía enteroendocrítica, los AGCC estimulan la secreción del péptido YY, una hormona liberada por las células epiteliales y colónicas en respuesta a la alimentación, conduciendo a la supresión del apetito (2, 10). La estimulación de FFAR2 promueve el almacenamiento de energía mediante el aumento de la adipogénesis, la inhibición de la lipólisis en los adipocitos y la disminución del gasto energético (9). Por su parte, el propionato modula la homeostasis energética mediante la activación de neuronas simpáticas mediadas por GPR41 (receptor acoplado a proteína G41), en contraste a los cuerpos cetónicos (2). La capacidad de modular el flujo simpático proporciona otro mecanismo que une la microbiota intestinal con el sistema nervioso entérico, el gasto de energía y la homeostasis metabólica.

En cuanto a las proteínas, los aminoácidos obtenidos por la degradación de proteínas dietarias, a través de la acción de proteasas y peptidasas luminarias, pueden servir de sustrato para la bioconversión por la microbiota intestinal. La histamina se genera a partir de la L-histidina,

por medio de la histidina descarboxilasa, producto del metabolismo fermentativo de *Lactobacilos*. Esta señal inmunoreguladora, generada por *Lactobacillus reuteri*, suprime la producción de la citoquina pro inflamatoria TNF (factor de necrosis tumoral) a través de receptores de histamina tipo 2 en el epitelio intestinal (2).

Por otra parte, la microbiota bacteriana interactúa fisiológica y patológicamente con el hospedador, por lo que participa en la regulación del sistema inmune sistémico y mucoso, además de contribuir en la regeneración del epitelio intestinal (20). Así mismo, participa en las principales vías metabólicas, como el metabolismo de carbono, la síntesis de aminoácidos, y en los importantes complejos proteicos ARN y ADN polimerasa, ATP sintetasa y el aparato secretorio general, entre otros (2, 9). De igual forma, interviene en la integración de proteínas en el hospedador (colágeno, fibrinógeno y fibronectina) y en la biodegradación de azúcares complejos y glicanos provenientes de la dieta del hospedador o del metabolismo desarrollado a nivel intestinal (22). Adicionalmente, desde el punto de vista metabólico, actúa en el catabolismo de toxinas y agentes carcinogénicos (2).

#### **Alteración de la microbiota intestinal humana y su efecto sobre la diabetes.**

La obesidad está asociada con un grupo de trastornos metabólicos y sistémicos, tales como resistencia a la insulina, diabetes tipo 2, hígado graso no alcohólico, aterosclerosis e hipertensión (2). Recientemente, se ha especulado con la hipótesis de que la microbiota intestinal podría ejercer un impacto sobre la diabetes más allá de la manipulación del peso (1).

El metabolismo y la inflamación se asocian de manera estrecha y hallazgos recientes han identificado que, en particular, el sistema inmune innato, que nos protege de infecciones, puede contribuir con la obesidad y la resistencia a la insulina (10). La visión actual referida a la investigación de desórdenes relativos al síndrome metabólico se concentra en el estudio de la microbiota intestinal humana. De hecho, alteraciones en ésta pueden estar relacionadas con la resistencia a la insulina, condición previa a la aparición de la diabetes (26). El efecto metabólico de la microbiota en relación con la extracción de la energía se entiende gracias al rol que juegan estas bacterias al transformar nutrientes complejos, como fibra dietética y mucina, en azúcares simples y ácidos grasos de cadena corta. Sin el efecto de

la microbiota intestinal tanto la fibra dietética como la mucina serían eliminadas en las deposiciones (19).

Factores cotidianos tales como el estrés o el consumo de agua clorada afectan a la microbiota intestinal, pero dichas alteraciones son menores comparadas con aquellas producidas por el consumo regular de antiinflamatorios, laxantes o antiácidos, o la aplicación de radioterapia o quimioterapia. La administración de antibióticos impacta en forma considerable el equilibrio de la microbiota intestinal, reduciendo drásticamente las poblaciones dominantes y favoreciendo la emergencia de patógenos oportunistas, como *Clostridium difficile* (11).

La microbiota intestinal regula en gran medida la inmunidad innata y adaptativa, e influye en las respuestas locales y sistémicas; por tanto, también podría influir en la inflamación crónica asociada a la obesidad y resistencia insulínica. Los receptores de reconocimiento celular de las células del sistema inmune innato, como los receptores Toll-like (TLR), constituyen un punto de partida de la inmunidad, que se activa en respuesta a estímulos microbianos o derivados de la dieta (proteínas o lípidos) e informa a las células del sistema inmune para que respondan adecuadamente a estos (2). Tras su activación por un ligando, los TLR interactúan con diferentes proteínas que activan la transcripción de distintos factores y la síntesis de diferentes citoquinas y mediadores inmunológicos de la inflamación. En este sentido, se ha demostrado que el lipopolisacárido (LPS) derivado de la membrana celular de las bacterias gram-negativas de la microbiota intestinal, así como los ácidos grasos saturados de la dieta, pueden actuar como ligando del receptor toll-like 4 (TLR4) y receptor toll-like 2 (TRL2), los cuales tienen la función de estimular la liberación de citoquinas inflamatorias endógenas, como el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleuquina 6 (IL-6) y otras citoquinas pro inflamatorias relacionadas con la inducción de resistencia a la insulina (19).

En los estudios de Cani et al (27), en modelos animales sometidos a una dieta rica en grasa, la endotoxemia metabólica caracterizada por aumento de los niveles séricos de lipopolisacáridos (LPS) puede ser un factor inflamatorio causante del aumento de peso corporal, la resistencia insulínica y la diabetes tipo 2. Los autores plantearon la hipótesis de que el lipopolisacárido bacteriano (LPS), puede ser el detonante del aumento en la inflamación observada en el síndrome metabólico

inducido por dietas ricas en grasas. De hecho, la administración de LPS por vía subcutánea en ratones, produce un aumento de peso y desarrollo de resistencia insulínica.

Corroborando los hallazgos obtenidos en modelos animales, se ha observado que la ingesta de una comida con alto contenido de grasa en sujetos sanos aumenta las concentraciones plasmáticas de LPS, al aumentar la proporción de bacterias gram negativas en el intestino (1), contribuyendo al desarrollo de un estado inflamatorio post-prandial y a la activación de las células endoteliales (11). Musso et al (15) reportan un incremento de *Bacteroidetes* y un mantenimiento de la cantidad de *Firmicutes* en sujetos obesos sometidos a dietas de restricción calórica, bajas en carbohidratos y/o grasas, durante 52 semanas.

Por tanto, es posible plantear que la endotoxemia producida por altos niveles de LPS, en respuesta a niveles elevados de lípidos en la dieta, podría contribuir al desarrollo de resistencia insulínica y diabetes (19). En contraste, la inhibición de la microbiota intestinal mediante la administración de antibióticos (específicamente, ampicilina y norfloxacina), en dos modelos animales diferentes de resistencia a la insulina, da lugar a una reducción de los niveles séricos de LPS, y de la inflamación de bajo grado, así como de la obesidad y la diabetes tipo 2, lo que demuestra el vínculo entre la microbiota intestinal y ciertos trastornos metabólicos (25, 28). Estos resultados sugieren que la disminución de los niveles plasmáticos de LPS podría ser una estrategia interesante para controlar los procesos inflamatorios asociados con las enfermedades metabólicas (9). Sin embargo, aunque se ha demostrado que un tratamiento antibiótico a corto plazo mejora la diabetes en ratones, los beneficios a largo plazo y los efectos secundarios de este enfoque aun siguen siendo estudiados (1).

En este mismo sentido, se ha demostrado que la obesidad es un estado pro inflamatorio (2). Bäckhed (10) hace referencia a que el fenotipo obeso puede trasplantarse entre individuos a través de la microbiota intestinal. De esta forma, se ha reportado que ratones con intestino libre de gérmenes presentan una menor adiposidad y no desarrollan obesidad inducida por dieta (15). En un experimento realizado por Ridaura et al, en el año 2013, la microbiota intestinal de ratones obesos y controles delgados, proveniente de 4 parejas de gemelos idénticos, con la única diferencia en el hecho de que en cada

pareja de gemelos uno era obeso y el otro delgado, fue trasplantada a ratones con intestino libre de gérmenes. Los ratones que adquirieron la microbiota intestinal de ratones obesos ganaron mayor masa grasa que aquellos que obtuvieron la microbiota de los controles delgados. La diferencia en la composición corporal de dichos ratones fue correlacionada con diferencias en la tasa de fermentación en el intestino grueso y en la producción de AGCC, incrementada en los individuos obesos. Estos resultados demuestran que las interacciones entre la dieta y la microbiota intestinal influyen en la biología del huésped (29) y que el fenotipo obeso puede trasplantarse entre organismos a través de la microbiota (10).

Comparado con ratones normopeso, la microbiota intestinal de ratones obesos muestra concentraciones de *Firmicutes* aumentadas en más de un 50%, mientras que las de *Bacteroidetes* disminuyen correlativamente. A pesar de que las concentraciones colónicas de AGCC son mayores en los ratones obesos, la cantidad de energía excretada en las heces es menor, indicando que el proceso de extracción y absorción de energía a partir de los alimentos es más eficiente en el animal obeso que en el normopeso (30). Tal situación podría deberse a que el número de genes bacterianos dedicados a la hidrólisis de polisacáridos es mayor en la microbiota intestinal de los animales obesos que en la de los normopeso. Estas observaciones indican que la mayor capacidad de extracción de energía y de almacenamiento de grasa es una característica transmisible en la cual participa la microbiota.

Estimulados por estas observaciones, numerosos estudios realizados en los últimos años han tratado de dilucidar la compleja interrelación entre la microbiota intestinal, obesidad y diabetes en el ser humano. La microbiota intestinal del ser humano obeso se comporta en forma similar a la del ratón obeso: el porcentaje de *Firmicutes* es mayor y el de *Bacteroidetes* menor, en comparación con los normopeso (9). Si bien estos estudios han confirmado la existencia de disbiosis (alteración de la microbiota intestinal) en los obesos y diabéticos, aún no existe un consenso acerca de las poblaciones bacterianas responsables del desarrollo de dichas patologías. En término general, la microbiota intestinal de los sujetos obesos presenta una menor biodiversidad que la de los sujetos normopeso. Aquellos individuos con menor biodiversidad tienden a presentar mayor adiposidad, resistencia insulínica, dislipidemia y

un fenotipo inflamatorio más pronunciado comparado con aquellos con alta biodiversidad. Algunos autores han propuesto que la presencia en la microbiota intestinal de concentraciones altas de *Staphylococcus aureus* y bajas de *Bifidobacterium* spp en la infancia podría predecir la futura aparición de sobrepeso u obesidad (9).

En relación a la microbiota predominante, cambios observados en la composición y función de ésta se relaciona con un mayor riesgo de padecer diabetes tipo 2, lo que está vinculado a un aumento del número de *Bacteroides* y *Clostridium* (31). Una de las más resaltantes evidencias de la modificación de la microbiota intestinal consiste en el aumento del rango de *Firmicutes*/*Bacteroidetes* en la sección distal del intestino, así como el incremento de la concentración de patógenos oportunistas y la producción de endotoxinas de bacterias gram negativas (2, 32). De esta forma, se propone que una alteración de la microbiota puede provocar cambios en la permeabilidad intestinal (por alteración del mucus intestinal y la capa de glicocalix, debido a la acción de microorganismos como *Bacteroidetes thetaiotaomicron*, *Akkermansia muciniphila* y *Escherichia coli*) e incrementar el metabolismo de la secreción de endotoxina, generando una inflamación crónica de bajo nivel, la resistencia a la insulina y, en última instancia, el desarrollo de diabetes tipo 2 (26). Por su parte, en mujeres embarazadas con sobrepeso también se ha observado la reducción del número de *Bifidobacteria* y *Bacteroidetes*, mientras que se ha incrementado el número de ciertos *Firmicutes* (como *Staphylococcus*) o *Proteobacteria* (como la *Enterobacteriaceae Escherichia coli*) (20).

Proporciones elevadas de *Firmicutes* y la equivalente reducción de *Bacteroidetes* se relaciona con un aumento de almacenamiento energético de 150 Kcal (2). Larsen et al (32) determinaron la composición de la microbiota intestinal en 36 daneses, de los cuales 18 resultaron con diabetes tipo 2, presentando un intervalo amplio de edad e índice de masa corporal entre ellos. La presencia de diabetes se correlacionó con cifras incrementadas de *Proteobacteria*, y concentraciones ligeramente disminuidas de *Firmicutes*, en especial de la clase *Clostridia*, en comparación con los individuos sanos. Furet et al (33) demostraron que las cifras de *Bacteroidetes* no tuvieron una correlación directa con la obesidad y diabetes tipo 2, sino con la ingesta de energía,

la cual puede proporcionar alguna explicación para la discrepancia entre los estudios. No obstante, la mayoría de los individuos obesos tiene una ingesta energética incrementada y, por ello, su intestino debe contener cantidades disminuidas de *Bacteroidetes*. La relación entre ingesta energética y *Bacteroidetes* también fue demostrada por Ley et al (24): las cifras de *Bacteroidetes* se incrementaron de manera drástica cuando los pacientes obesos se sometieron a una dieta con bajo contenido de grasa o de carbohidratos.

La presencia de disbiosis también ha sido descrita sujetos con diabetes tipo 2, los cuales en términos generales tienen menor cantidad de *Bifidobacterium* spp y *Faecalibacterium prausnitzii*, conocidos por tener actividad anti-inflamatoria (9). En un estudio reciente combinando análisis metagenómico y clínico, Karlsson et al (34), caracterizaron el metagenoma bacteriano fecal de 145 mujeres europeas sanas, pre-diabéticas o diabéticas utilizando una plataforma de secuenciación de alto rendimiento, que generaba secuencias de ~100 nucleótidos. Identificaron secuencias que actuaban como características de grupos de genes correlacionados con funciones determinadas, y compararon la frecuencia de estas en los sujetos sanos y con diabetes tipo 2. Encontraron que la menor abundancia de clostridia productoras de butirato (*Roseburia intestinalis* y *Faecalibacterium prausnitzii*) era altamente discriminante de diabetes tipo 2.

En este sentido, hallazgos demuestran una disminución de la especie *Faecalibacterium prausnitzii*, productora de butirato, en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y diabetes tipo 2; y que la abundancia de dicha especie está asociada negativamente con biomarcadores de inflamación antes y después de una cirugía de Bypass gástrico, lo que indica que esta especie bacteriana puede contribuir a mantener la salud intestinal (33). En pacientes saludables, la microbiota intestinal es más diversa y *F. prausnitzii* se halla en mayor cantidad (10). En concordancia con este hallazgo, Furet y colaboradores (33), observaron una disminución de *F. prausnitzii* en pacientes obesos con diabetes tipo 2. Por consiguiente, una microbiota alterada en pacientes con diabetes tipo 2 puede también contribuir a la progresión de la enfermedad (2, 10). No obstante, los mecanismos por los cuales *F. prausnitzii* protege contra EII y diabetes aún deben aclararse.

Además, una de las complicaciones gastrointestinales más corrientes de la diabetes son los episodios crónicos de diarrea acuosa. Se ha comprobado que el sobrecrecimiento bacteriano debido a la reducción de la motilidad gastrointestinal relacionada con la neuropatía diabética es la causa de esta complicación intestinal y que el tratamiento con antibióticos mejora los síntomas clínicos (1).

Especial mención en este tema merece el consumo de edulcorantes artificiales no calóricos (EANC) y la asociación con cambios en la microbiota intestinal. A pesar de que en algunos estudios se evidencian efectos beneficiosos de los EANC, como la respuesta glicémica, en otros se ha encontrado su relación con la ganancia de peso y aumento del riesgo de padecimiento de diabetes tipo 2 (31). Los EANC transcurren a través del tracto gastrointestinal sin ser digeridos por el hospedador, estando finalmente en contacto con la microbiota intestinal, la cual regula múltiples funciones fisiológicas en éste. De esta manera, se han encontrado asociaciones entre la composición y función de esta microbiota mediados por los EANC con la afección del metabolismo de la glucosa en el hospedador (35).

Suez et al (31) desarrollaron un experimento consistente en el suministro de agua mezclada con sacarina, sucralosa o aspartame a ratones (C57Bl/6) de 10 semanas de edad. El control consistió en el suministro de agua o agua suplementada con glucosa o sucrosa a un grupo de ratones con las características mencionadas. Estos investigadores encontraron que en la semana 11, el grupo control del experimento presentó una curva de tolerancia a la glucosa comparable, en tanto que los tres grupos de ratones que consumieron EANC mostraron una marcada intolerancia a la glucosa. En este caso, la sacarina generó el efecto más pronunciado. Por ello, para confirmar esta observación, se sometió a un grupo de ratones a una dieta alta en grasa, mientras que otros grupos consumieron sacarina comercial o glucosa, constituyendo este último el grupo control. Los ratones sometidos a una dieta alta en grasa y aquéllos que consumieron sacarina comercial presentaron intolerancia a la glucosa, en relación al grupo control. De igual forma, se presentó intolerancia a la glucosa con el suministro de sacarina pura (0,1 mg/ml) en el agua de bebida, comparándolo con lo obtenido en ratones con una dieta alta en grasa y aquéllos que sirvieron de

grupo control. Se sugiere entonces que la intolerancia a la glucosa está asociada a la alteración de la microbiota intestinal mediada por los EANC, manifestando efectos sobre una amplia diversidad de bacterias. Se ha establecido que la sacarina, al tener efectos sobre la composición de la microbiota intestinal humana, puede alterar, entre muchas otras, las vías metabólicas para la degradación de glicanos, fermentados a través de, entre otros compuestos, AGCC (31).

Por otra parte, la diabetes tipo 1 es una de las enfermedades autoinmunes más estudiadas en la actualidad, no solo por su complejidad genética sino por su susceptibilidad a factores ambientales. Semejante a su contraparte Tipo 2, la diabetes tipo 1 se caracteriza por un defecto en el metabolismo de los carbohidratos, pero en este caso, debido a la destrucción de las células  $\beta$  del páncreas mediado por mecanismos autoinmunes, manifestándose como ausencia absoluta de insulina (12). Se estima que anualmente unos 77.000 niños menores de 15 años desarrollan diabetes tipo 1 en el mundo y el total de niños es de aproximadamente de 480.000 (3, 4).

Durante décadas recientes, en países occidentales la incidencia de diabetes tipo 1 entre niños y adolescentes se ha incrementado debido a razones aún desconocidas, que sugiere implicación significativa del ambiente (10). Si bien se han descrito los factores genéticos para esta patología, se han considerado varios factores ambientales capaces de inducir la autoinmunidad contra células  $\beta$ : parto por cesárea, deficiencia de vitamina D, exposición temprana a proteínas de la leche de vaca, exposición limitada a microorganismos durante la infancia e incremento en la incidencia de obesidad infantil (12).

Desde finales de la década de los 90, se ha reportado la asociación de parto vía cesárea y defectos en el sistema inmunológico. Aquellos bebés nacidos vía abdominal presentan mayor actividad fagocítica y producción de especies reactivas de oxígeno, lo cual constituye un factor de riesgo para daño tisular (35). Estudios realizados sobre la flora intestinal entre lactantes menores nacidos por vía vaginal o cesárea, reportan que la colonización por *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* en los nacidos por cesárea fue retardada, y existía una menor colonización por *Bacteroidis fragilis* (12).

Salminen et al (36) señalan que los niños nacidos por cesárea presentan niveles más elevados de *Clostridium*, sugiriendo colonización más temprana con modificación

de la flora intestinal. Un reciente meta-análisis describe que existe un 20% de riesgo para diabetes tipo 1 en aquellos niños nacidos por cesárea, lo cual no se explica por otros factores de confusión (peso al nacer, edad gestacional, edad materna, orden de nacimiento, diabetes materna o incluso lactancia materna), lo que sugiere deberse a la exposición bacteriana temprana en la vida neonatal (12).

Debido a que se ha observado un metaboloma alterado en la sangre del cordón, se propone la hipótesis de que la microbiota intestinal de la madre se transfiere a la descendencia que progresa a diabetes tipo 1; de este modo, el recién nacido puede estar desprovisto de factores constitutivos importantes o tener una función intestinal alterada que predispone a diabetes tipo 1. Estos hallazgos sugieren que la manipulación de la composición de la microbiota intestinal durante el embarazo o la infancia temprana puede proporcionar una estrategia terapéutica novedosa para prevenir o tratar esta enfermedad (10).

#### Perspectivas a futuro.

Si bien se ha demostrado que distintas patologías se asocian con ciertos perfiles de composición de microbiota, no se ha logrado establecer si estas variantes intestinales juegan un rol de causalidad o corresponden más bien a un efecto de los cambios en la función intestinal explicados por la patología de cada individuo (19).

Luego de probar la eficacia del consumo de probióticos y prebióticos para la modulación de la microbiota intestinal, en modelos animales, los resultados son alentadores. Los probióticos se definen como microorganismos viables, inoocuos, que al ser ingeridos en cantidades suficientes, influyen beneficiosamente sobre la salud del hospedador, a través de sus efectos en el tubo intestinal (1), mientras que los prebióticos se definen como oligosacáridos no digeribles, como la inulina y la oligofruetosa, que sirven de sustrato para fermentación a la microbiota intestinal y mejora el crecimiento de microorganismos beneficiosos como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* spp (15). Se ha demostrado que el consumo de probióticos y prebióticos se asocia a una mayor concentración de bacterias gram positivas y a una disminución de las gram negativas en las heces, con la consiguiente disminución de los niveles de LPS circulante, lo cual podría disminuir el desarrollo de la endotoxemia, y por ende, el desarrollo de obesidad y resistencia insulínica (19). La ingestión de *Lactobacillus*

*casei* retrasó el inicio de diabetes en ratones diabéticos no obesos así como en ratones con diabetes inducida (1).

Se ha sugerido que el consumo de prebióticos podría reducir el riesgo de diabetes, probablemente a través de las propiedades físicas y las proporciones de ácidos grasos de cadena corta producidos por fermentación colónica de las fibras (38) La administración dietaria de oligofruetosa estimula el crecimiento de las poblaciones gram-positivas de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* en el colon, en ratones obesos, y protege frente a la alteración de permeabilidad intestinal, disminuyendo la endotoxemia y el subsecuente aumento de marcadores plasmáticos y tisulares de estrés oxidativo y de inflamación (9). Cani et al (39), fueron de los primeros en demostrar que la administración de una dieta con 10% de oligofruetosa, en ratones, disminuía el consumo de alimentos y la masa grasa epididimal después de tres semanas. El consumo de este prebiótico permitió mejorar la glicemia e insulinemia en ayunas de ratas diabéticas e inhibir el apetito de animales alimentados con una dieta alta en grasa. El efecto protector sobre la función intestinal de barrera es probablemente mediado por la generación de AGCC en el colon durante la fermentación del prebiótico. Estos compuestos estimularían la liberación, por las células enteroendocrinas L del epitelio intestinal, de GLP-2, una hormona digestiva con actividad trófica para la mucosa intestinal (9).

Estimulados por los hallazgos relacionados al consumo de prebióticos, Cani et al (40) desarrollaron un ensayo clínico randomizado, en doble-ciego y controlado en 10 voluntarios sanos, divididos en dos grupos de 5 voluntarios cada uno, que recibieron diariamente 16 g de prebiótico (fructanos) o de maltodextrina por 2 semanas. El consumo de oligofruetosa aumentó la fermentación en el colon (evaluada mediante test de H<sub>2</sub> en aire espirado). Los efectos asociados al consumo de oligofruetosa podrían explicar la disminución de la sensación de hambre y la disminución post-prandial de la glicemia, también observadas en estos sujetos.

Estos resultados sugieren que la incorporación de prebióticos y probióticos a la dieta puede ser una estrategia interesante para controlar el apetito mediante la modulación de la microbiota intestinal (9), y por consiguiente, la disminución del riesgo de aparición de obesidad y diabetes tipo 2.

Más recientemente y debido a su impacto fisiológico sobre el resto del cuerpo humano, la microbiota intestinal es actualmente reconocida como un órgano más del humano y, como muchos otros órganos, puede ser trasplantada de un individuo a otro. En la actualidad, dichos trasplantes se realizan principalmente para el manejo de los pacientes con infección reiterativas por *Clostridium difficile* o en aquellos con enfermedades inflamatorias crónicas del intestino (9).

El ensayo clínico de Vrieze et al (41), demostró que el trasplante de microbiota intestinal de donantes normopeso sanos a receptores con síndrome metabólico, mediante sonda naso-duodenal, mejora su sensibilidad a la insulina. Los autores asocian este hallazgo al aumento de las concentraciones intestinales de bacterias productoras de butirato y de este AGCC, el cual podría regular el metabolismo glucídico y lipídico, estimulando el eje intestino-cerebro-hígado a través del sistema nervioso entérico.

La caracterización del genoma microbiano en su totalidad, actividad que adelantan varios proyectos globales (15, 14), permitirá abrir un abanico de opciones en las aplicaciones futuras.

### Conclusiones

La caracterización y el conocimiento de la microbiota intestinal del ser humano han progresado en forma considerable. En este sentido, se ha demostrado que la microbiota intestinal de los obesos y de los pacientes con diabetes tipo 2 está alterada, siendo en estos casos más eficiente en la extracción de energía a partir de los alimentos, cuando es comparada con aquella de los individuos sanos. El aporte de grasa dietaria también altera la composición de la microbiota intestinal, aumentando poblaciones bacterianas gram-negativas y alterando la función intestinal de barrera. Estos eventos conllevan al aumento de las concentraciones plasmáticas de LPS y el consiguiente desarrollo de un estado inflamatorio de bajo grado que facilita la aparición de resistencia insulínica y diabetes tipo 2. En la actualidad, es considerada como un actor importante en la regulación del metabolismo energético del organismo. Los avances de la tecnología, como la secuenciación del ARNr 16S, metagenómica del genoma completo, entre otras técnicas, permite recopilar información que contribuye a caracterizar las enfermedades y lideran el camino hacia una mayor comprensión de la importancia

y el papel de la microbiota intestinal en los trastornos metabólicos; el reto es traducir toda la información disponible en herramientas capaces de proporcionar estrategias terapéuticas para reducir la carga global cardiometabólica en las poblaciones humanas. El consumo de prebióticos o de probióticos podría ayudar a mantener la homeostasis de la microbiota intestinal, previniendo las alteraciones anteriormente descritas y estimulando mecanismos implicados en la sensación de saciedad. El trasplante de microbiota intestinal de sujetos sanos a pacientes con síndrome metabólico normaliza su resistencia insulínica, ilustrando su importancia en la regulación del metabolismo glucídico y lipídico.

### Referencias

1. Bibiloni R, Membrez M, Jason Chou C. Microbiota intestinal, obesidad y diabetes. *Ann Nestlé* 2009; 67:39-48.
2. Devaraj S, Hemarajata P, Versalovic J. La microbiota intestinal humana y el metabolismo corporal: Implicaciones con la obesidad y la diabetes. *Acta Bioquím Clín Latin* 2013; 47(2): 421-434.
3. Organización Mundial de la Salud (OMS). Diabetes. [Citada 12 nov 2014]. Disponible en: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>.
4. Camejo M, García A, Rodríguez E, Carrizales M, Chique J. Visión epidemiológica de la Diabetes. Situación en Venezuela. Registro epidemiológico y propuesta de registro. Programas de detección precoz. *Rev Ven Endocrin Metabol* 2012; 10 (Supl 1): 3-6.
5. Whiting D, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diab Res Clin Pract* 2011; 94:311-321.
6. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper L, Young G, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulate fat storage. *PNAS* 2004; 101(44): 15718-15723.
7. Mönckeberg F, Corsini G. Microbiota intestinal, metabolismo y balance calórico. *Rev Chil Nutr* 2011; 38(4): 477-481.
8. Burcelin R, Serino M, Chabo C, Blasco-Baque V, Amar J. Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective. *Acta Diabetol* 2011; 48:257-273
9. Gotteland M. El papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la obesidad y de la diabetes de tipo-2. *Rev Chil Endocrinol Diabetes* 2013; 6(4): 155-162.
10. Bäckhed F. Programación del metabolismo del huésped

- por la microbiota intestinal. *Ann Nutr Metab* 2011; 58(1): 44-52.
11. Morales P, Brignardello J, Gotteland M. La microbiota intestinal: Un nuevo actor en el desarrollo de la obesidad. *Rev Med Chile* 2010; 138:1020-1027.
  12. Aguirre M, Rojas J, Cano R, Villalobos M, Paoli M, Berrueta L. Diabetes tipo 1 y factores ambientales: La gran emboscada. *Rev Ven Endocrin Metabol* 2012; 10(3): 122-130.
  13. Peris-Bondia F. Fraccionando la microbiota intestinal humana [Tesis Doctoral]. Valencia (Esp): Universitat de València; 2012.
  14. Clemente J, Ursell L, Wegener L, Knight R. The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View. *Cell* 2012; 148:1258-1270.
  15. Musso G, Gambino R, Cassader R. Obesity, Diabetes, and Gut Microbiota. The hygiene hypothesis expanded? *Diab Care*. 2010; 33:2277-2284.
  16. Rodicio M, Mendoza M. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enf Infecc Microbiol Clin* 2004; 22(4):238-245.
  17. Makino H, Kushi A, Ishikawa E, Muylaert D, Kubota H, Sakay T, et al. Transmission of intestinal *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* strains from mother to infant, determined by multilocus sequencing typing and amplified fragment length polymorphism. *Applied Environ Microbiol* 2011; 77(19):6788-6793.
  18. Favier CF, De Vos W, Akkermans A. Development of bacterial and bifidobacterial communities in feces of newborn babies. *Anaerobes* 2003; 9:219-229.
  19. Farías M, Silva C, Rozowski J. Microbiota intestinal: rol en obesidad. *Rev Chil Nutr* 2011; 38(2): 228-233.
  20. Tilg H, Kaser A. Gut microbiota, obesity and metabolic dysfunction. *J Clin Invest* 2011; 121(6): 2126-2132.
  21. Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 2012; 489: 242-249.
  22. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gen catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464: 59-65.
  23. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet J, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Nat Acad Sci* 2010; 107(33):14691-14696.
  24. Ley R, Turnbaugh P, Klein S, Gordon J. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444(7122):1022-1023.
  25. Sanz Y, Santacruz A, Dalmau J. Influencia de la microbiota intestinal en la obesidad y las alteraciones del metabolismo. *Acta Pediatr* 2009 67(9):437-442.
  26. Zhang Y, Zhang H. Microbiota associated with type 2 diabetes and its related complications. *Food Sci Human Wellness* 2013; 2: 167-172.
  27. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxaemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56:1761-1772.
  28. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck A, Delzenne N, Burcelin R. Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes*. 2008; 57:1470-1481.
  29. Ridaura V, Faith J, Rey F, Cheng J, Duncan A, Kau A, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science* 2013; 341:1241-1244.
  30. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444: 1027-1031.
  31. Suez J, Korem T, Zeevi D, Zilberman-Schapira G, Thaiss C, Maza O, et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature* 2014; 1-18.
  32. Larsen N, Vogensen FK, Van den Berg FW, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS ONE* 2010; 5(2)e9085: 1-10.
  33. Furet JP, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouil-lot JL, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes* 2010; 59: 3049-3057.
  34. Karlson F, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre C, Fagerberg B, Nielsen J, Bäckhed F. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 2013; 498: 99-103.
  35. Nettleton JA, Lutsey P, Wang Y, Lima JA, Michos ED, Jacobs DR. Diet soda intake and risk of incident metabolic syndrome and type 2 diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetes Care*. 2009; 32: 688-694.

36. Grönlund M, Nuutila J, Peltö L, Lilius E, Isolauri E, Salminen S, et al. Mode of delivery directs the phagocyte functions of infants for the first 6 months of life. *Clin Exp Immunol* 1999; 116:521-526.
37. Salminen S, Gibson G, McCartney A, Isolauri E. Influence of mode of delivery on gut micro-biota composition in seven year old children. *Gut* 2004; 53:1388-1389.
38. Weickert MO, Pfeiffer AF. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *J Nutr* 2008; 138: 439-442.
39. Cani PD, Hoste S, Guiot Y, Delzenne N. Dietary non-digestible carbohydrates promote L-cell differentiation in the proximal colon of rats. *Br J Nutr* 2007; 98: 32-7.
40. Cani P, Lecourt E, Dewulf E, Sohet F, Pachikian B, Naslain D, et al. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 1236-1243.
41. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JF. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012; 143: 913-916.

Recibido: 25-05-2015

Aceptado: 23-03-2016