

**Máster Universitario en Condicionantes Genéticos,
Nutricionales y Ambientales del Crecimiento y el Desarrollo**

Facultad de Medicina



Trabajo Fin de Máster

**Papel de los factores ambientales en las enfermedades autoinmunes: Microbiota Intestinal y Diabetes Mellitus Tipo 1.
¿Podrían ser las bacterias intestinales la clave para un posible tratamiento y prevención de esta patología?**

Autora: María Losada Pulido

Tutora: Dra. María Laura Bertholt Zuber

**Papel de los factores ambientales en las enfermedades autoinmunes:
Microbiota Intestinal y Diabetes Mellitus Tipo 1. ¿Podrían ser las bacterias
intestinales la clave para un posible tratamiento y prevención de esta
patología?**

**Role of environmental factors in autoimmune diseases: Gut microbiota
and Type 1 Diabetes Mellitus. Could gut bacteria be the key to a possible
treatment and prevention of this disease?**

Línea de investigación: Desarrollo del Sistema Inmune, Inmunonutrición,
Inmunogenética e Inmunoambiente.

Autora: María Losada Pulido

DNI 29489277B

Director: Dra. Laura Bertholt Zuber

DNI 72273649J

Santander, 12 de Octubre de 2017 La Doctora María Laura Bertholt Zuber Informa que el alumno María Losada Pulido ha realizado el trabajo Fin de Máster, titulado "Papel de los factores ambientales y nutricionales en las enfermedades autoinmunes: Microbiota intestinal y Diabetes Mellitus Tipo 1. ¿Podrían ser las bacterias intestinales la clave para un posible tratamiento y prevención de esta patología?" bajo su dirección, y le autoriza para que sea presentado para su defensa.

A handwritten signature in purple ink, appearing to read 'M. Bertholt', enclosed within a simple purple rectangular box.

Dra María Laura Bertholt DNI 72273649J

Dedicado a mi italiano, que ha sido una inspiración con su historia personal en la elección y elaboración de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Gracias especialmente a mis padres y hermana por soportarme en los momentos de caos y por aconsejarme siempre con amor y paciencia. Os quiero.

Agradecer ante todo a mi pareja Antonio, su apoyo y ayuda en los momentos de mayor dificultad sobre todo en aquellos en los que elecciones y responsabilidades profesionales se cruzan con las personales. Pero a pesar de todo, como nos ocurre siempre en nuestros viajes, con un super sprint final conseguimos llegar juntos a nuestro destino logrando lo que nos proponemos así que grazie mille por esa noche en la que tu ayuda técnica y moral a pesar del cansancio y las altas horas de la madrugada, consiguieron darme ese último impulso hacia la meta final. Mandy. Gracias por todo. Te quiero.

A mi compañera de Máster y amiga Julia Aragón Díez por su ayuda incondicional, por los momentos compartidos en Madrid, nuestras conversaciones y sus mensajes de ánimo en los últimos meses. Muchas gracias amiga.

Dar las gracias también a mi tutora Laura Bertholt por el apoyo mostrado a pesar de la distancia y por su dedicación y esfuerzo. Me hubiese encantado poder aprender mucho más de ti.

No puedo olvidar a Teresa Amigo Lanza, la persona con la que más contacto he tenido durante estos meses, su paciencia y su ayuda en todo momento, intentando facilitarnos siempre las cosas, son de gran valor y aprecio enormemente como te has involucrado y has tratado continuamente de dar soluciones a todos los problemas que se han presentado durante este tiempo. Gracias.

Agradecer también su trabajo a todos los profesores del Máster a los que he tenido la oportunidad de conocer en prácticas y que han participado también en esta etapa de mi vida.

ABSTRACT

Type 1 Diabetes Mellitus (T1DM) is an autoimmune disease that usually begins in the childhood or adolescent, although it can also onset in the adulthood and it affects both women and men alike (1). The incidence higher in Finland (> 60 cases per 100 000 people each year) and Sardinia (around 40 cases per 100 000 people each year) being, on the contrary, the countries with the lowest rate of affected China, India, and Venezuela (around 0, 1 cases per 100 000 people each year) (2)

This disease is characterized by the selective and progressive destruction of the β cells of the pancreatic islets responsible for the synthesis and secretion of insulin giving rise to a chronic hyperglycemia state (3). This reaction of the immune system is mediated by T cells: CD4 T cells that secrete proinflammatory cytokines and CD8 T cells that have a cytotoxic activity (4)

The genetic influence in this disease, which represents approximately the 69% have been associated with polymorphisms (SNPs) in more than 50 loci (5), (6), but it is not sufficient to explain the pathogenesis of the disease, being necessary the presence of environmental or nutritional factors that trigger it. (7)

Being the study of these factors one of the fundamental points in different investigations carried out to explain the annual increase in the number of new cases of DMT1 that has occurred in the last decades in Europe (3.9%) and America (5%) even in people with a low genetic risk. (8), (9)

The results of this systematic review indicate that, despite the implication of genetics in the development of diabetes, there are environmental factors that play a very important role in the disease onset.

KEYWORDS type one diabetes mellitus, endocrinology, environmental factors, genes, therapy, gut microbiota, pancreas.

RESUMEN

La diabetes mellitus tipo 1 (DMT1) es una enfermedad autoinmune que inicia, en la mayoría de los casos durante la infancia o la adolescencia, aunque puede manifestarse en cualquier etapa de la vida, afectando por igual a ambos sexos (1). Presenta una mayor incidencia en Finlandia (>60 casos por cada 100.000 personas al año) y Cerdeña, con aproximadamente 40 casos al año por cada 100.000 personas, siendo los países con menor tasa de afectados China, India, y Venezuela (0,1 casos anuales por cada 100.000 personas) (2)

Esta patología se caracteriza por la destrucción selectiva y progresiva de las células β de los islotes pancreáticos responsables de la síntesis y secreción de insulina dando lugar a un estado de hiperglucemia crónica. (3) La reacción del sistema inmunológico está mediada por células T, CD4 que dan lugar a la liberación de citocinas proinflamatorias y células T CD8 citotóxicas. (4)

La influencia de la genética en esta enfermedad, que representa aproximadamente el 69%, y a la que se han asociado polimorfismos (SNPs) en más de 50 loci (5),(6), no es suficiente para explicar su patogénesis, siendo necesaria la presencia de factores ambientales o nutricionales que la desencadenen. (7)

Y es precisamente el estudio de estos factores uno de los puntos fundamentales en distintas investigaciones llevadas a cabo actualmente, las cuales buscan dar respuesta al incremento anual en el número de nuevos casos de DMT1 que se ha producido en las últimas décadas en Europa y América, siendo éste del 3.9% y 5% respectivamente, incluso en personas con un riesgo genético bajo. (8), (9)

Los resultados de esta revisión sistemática indican que, a pesar de la implicación de la genética en el desarrollo de la diabetes, existen factores ambientales que juegan un papel muy importante en el inicio de la enfermedad.

PALABRAS CLAVE: Diabetes Mellitus Tipo 1, autoinmunidad, endocrinología, factores ambientales, genes, tratamiento, microbiota intestinal, páncreas.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
METODOLOGÍA	5
RESULTADOS	5
1. Factores ambientales implicados en DMT1	5
1.1. Papel de las bacterias intestinales en la DMT1	5
1.2. Catelicidina y DMT1	14
1.3. Virus y DMT1	16
1.4. Vitamina D y DMT1	16
2. Nuevas líneas terapéuticas en DMT1	17
2.1. Probióticos	17
2.2. Carnosina (β-alanil-L-histidina) y carcinina (β-alanilhistamina)	19
DISCUSIÓN	20
1. Limitaciones	23
2. Perspectivas futuras	24
CONCLUSIÓN	25
BIBLIOGRAFÍA	27

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 1 es una enfermedad autoinmune mediada por células T que da lugar a una destrucción de las células β de los islotes de Langerhans del páncreas (2)

Actualmente, se han realizado numerosos avances científicos para mejorar el tratamiento farmacológico y la adherencia terapéutica de estos pacientes, sin embargo la causa de esta compleja enfermedad sigue siendo un misterio para la comunidad científica, siendo una de las patologías que está experimentando un mayor aumento en su incidencia en los últimos años.

Pero a pesar de las incógnitas que aún rodean a la diabetes mellitus de tipo 1, existen datos y evidencias de la implicación de la genética y de otros factores en la patogenia, los cuales se muestran a continuación, (10)

En humanos existe un mayor riesgo genético de padecer DMT1 así como otras enfermedades autoinmunes, relacionado con el gen que codifica para el HLA (antígeno leucocitario humano) localizado en el cromosoma 6p21, siendo los genes HLA-DR y DQ los que mayor asociación presentan con la enfermedad, representando el 40-50% del riesgo genético. (5), (11)

También se han identificado otros genes no MHC implicado en la enfermedad, como el que codifica para la insulina, el PTPN22, IL2RA, y el CTLA4, relacionándose este último con la diabetes al codificar el receptor inhibitor de los linfocitos T,(12) sin embargo esto no es suficiente para explicar el aumento en el número de nuevos casos de DMT1 en las últimas décadas, incluso entre personas con bajo riesgo genético, como demuestran numerosos estudios realizados en gemelos homocigóticos de los cuales uno desarrollaba la enfermedad y el otro no (13), (14) así como el hecho de que de las personas que presentan riesgo genético de padecer la enfermedad sólo el 10% la desarrolló.(15)

Este rápido aumento en el número de personas que padecen diabetes, lo han experimentado también otras enfermedades de carácter inmunológico como la celiacía,

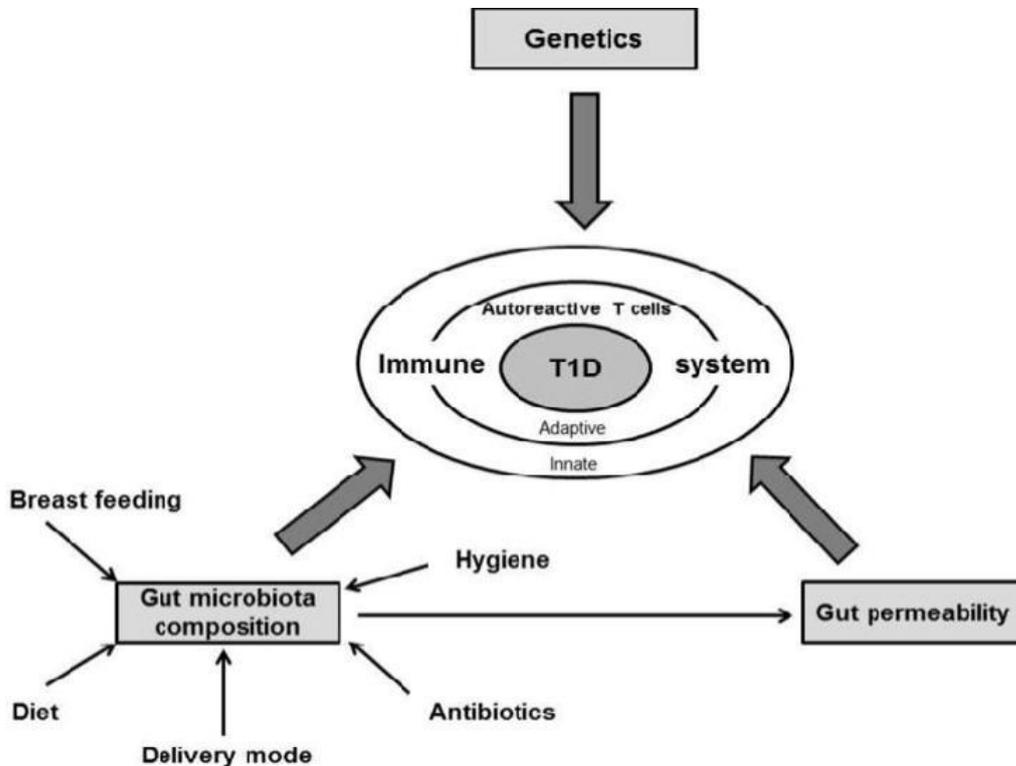
distintos tipos de alergias o la enfermedad inflamatoria intestinal, siendo difícil de explicar únicamente a través de la genética (16)

Existirían otros factores, ambientales o nutricionales implicados en la patogénesis de la diabetes siendo muchas las investigaciones que han relacionado las infecciones por enterovirus (7),(9) la introducción de leche de vaca durante los primeros años de vida (17), la composición de la microbiota intestinal (18),(19), el déficit de vitamina D en la infancia (20), la lactancia artificial, el parto por cesárea (21) o el exceso de tejido adiposo con un mayor riesgo de sufrir la enfermedad.(22) Dichos factores ambientales podrían modificar la expresión de genes implicados en la respuesta autoinmune por mecanismos epigenéticos, los cuales pueden ser heredables, y son capaces de producir modificaciones en el ADN sin alterar la secuencia genética. Dentro de estos mecanismos podemos nombrar la metilación del ADN y cambios en las histonas como pueden ser la acetilación, fosforilación o metilación, observándose diferencias epigenéticas en genes relacionados con la enfermedad como son el HLA, el GAD65 implicado en la respuesta de las células T autoreactivas o el INS responsable de la función de las células β pancreáticas, entre pacientes con diabetes y aquellos que no presentan la enfermedad. (14)

El estudio de estos factores resulta actualmente fundamental para entender la etiología de la enfermedad y poder así investigar nuevas líneas de tratamiento e incluso llegar a prevenirla.

Investigaciones recientes, tanto en animales como en humanos, se han centrado en el estudio del microbioma intestinal y su posible implicación en el desarrollo de la enfermedad.(23) Éstas se apoyan en la asociación anatómica y bioquímica entre páncreas e intestino, lo cual supondría que cualquier cambio inmunológico o metabólico producido en este último tendría un efecto directo en el páncreas, existiendo evidencias de que la alteración en la composición y función de la microbiota intestinal debido a factores como la administración de antibióticos a la madre durante el embarazo y al niño durante los primeros meses de vida, el tipo de alimentación en etapas precoces del desarrollo o el parto por cesárea, producen un aumento de la permeabilidad intestinal lo que favorece la penetración de microorganismos, hecho que puede contribuir a la autoinmunidad del páncreas por la entrada de autoantígenos responsables de la respuesta autoinmune, traduciéndose todo esto en un mayor riesgo de sufrir DMT1,

como se muestra de manera esquematizada en la siguiente imagen. (15) Además se ha comprobado que defectos en la barrera intestinal también favorecerían la infiltración de linfocitos en el páncreas y la respuesta autoinmune. (8)



Genetic and non-genetic factors determine the risk of developing diabetes in genetically predisposed individuals (33)

Pero para intentar descubrir las causas de esta compleja enfermedad, es fundamental conocer las características del páncreas y de los islotes de Langerhans, los cuales están conformados por tres tipos celulares, las células β responsables de la síntesis de insulina, las células α que sintetizan glucagón y las células δ encargadas de la producción de somatostatina. El páncreas es un órgano particularmente sensible al estrés, pues la acción de las enzimas antioxidantes presentes en los islotes de Langerhans es mucho menor que en el resto de órganos, dando lugar a un mayor daño oxidativo en las células β lo cual se asocia a una disminución en la síntesis y secreción de insulina. Se ha observado que esta reducción en la síntesis y secreción de insulina se ve incrementada también cuando existe un estado de hiperglucemia crónica en modelos animales diabéticos de tipo 2, siendo un efecto comparable al que produce el

estrés oxidativo.(7)

Seguir investigando sobre las posibles causas de la enfermedad para desarrollar nuevos tratamientos eficaces, es fundamental para prevenir y evitar los daños que se producen en diversos órganos como consecuencia de la DMT1 y probablemente asociados a niveles glucémicos elevados que experimentan estos pacientes a pesar de la administración exógena de insulina, daños que pueden dar lugar a nefropatías, retinopatías, neuropatías y problemas cardiovasculares que se asocian a un aumento de morbilidad y mortalidad en los pacientes diabéticos.(24),(25) (26)

Por otro lado, es necesario no sólo idear tratamientos que sean eficaces o mejoren el control glucémico si no también que sean una garantía de una buena calidad de vida para estos pacientes.

OBJETIVOS

- Analizar los datos conocidos hasta el momento sobre la influencia de factores ambientales implicados en la patogenia de la DMT1.
- Estudiar en profundidad la evidencia actual sobre la relación entre microbioma intestinal y páncreas.
- Aportar nuevas ideas y líneas de investigación que puedan servir para futuros tratamientos o formas de prevenir la enfermedad.

METODOLOGÍA

Revisión bibliográfica de la evidencia actual de la influencia de factores ambientales y nutricionales en la Diabetes Mellitus de Tipo 1. Para su elaboración se han consultado las siguientes bases de datos online: pubmed y google scholar, obteniendo la información necesaria de artículos científicos originales publicados entre los años 2009-2017 y realizando un análisis de los posibles factores desencadenantes de la DMT1 así como las variantes genéticas que predisponen a la misma, para lograr entender mejor la fisiopatología de la enfermedad e idear nuevas líneas de investigación que den lugar a tratamientos eficaces tanto para frenarla como prevenirla. Para ello un total de 56 artículos originales y revisiones, han sido analizados.

RESULTADOS

1. Factores ambientales implicados en DMT1

1.1. Papel de las bacterias intestinales en la DMT1

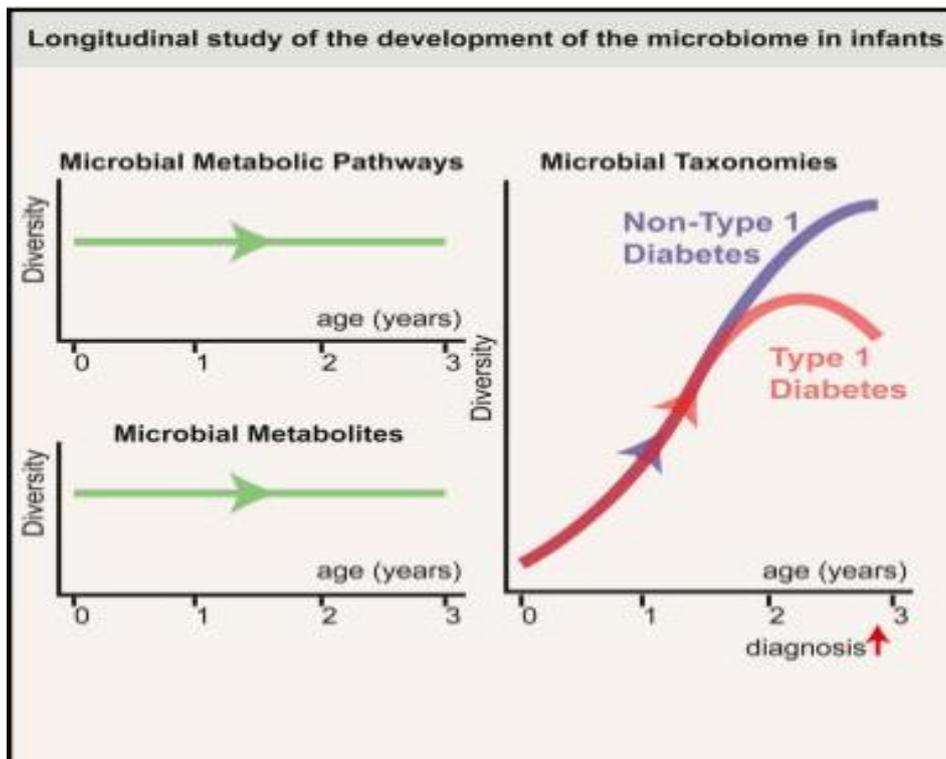
En los últimos años se ha observado que la composición de la microbiota intestinal ha sufrido grandes cambios y alteraciones, probablemente consecuencia directa del estilo de vida actual con un aumento del consumo de alimentos procesados, así como del uso indebido de antibióticos. (27), (28) por lo que dada la asociación anatómica y bioquímica entre páncreas e intestino y la amplia carga bacteriana intestinal, pudiéndose diferenciar entre 500 y 1000 especies distintas, (29) no es extraño pensar que cualquier alteración producida en este órgano pudiese generar efectos en el páncreas.

En esta idea se basan estudios recientes que tratan de buscar el origen de la inflamación y la progresión de la reacción autoinmune producida en el páncreas de algunas personas, responsable de la muerte de las células β de los islotes pancreáticos y de la DMT1 (8)

Una aportación importante para el avance en la investigación de esta enfermedad,

es la relación que se ha observado entre microbioma intestinal y sistema inmunitario, considerándose la composición bacteriana del intestino, un factor implicado en la patogénesis de enfermedades en las que la inmunidad juega un papel importante, como es el caso de las infecciones, enfermedades inflamatorias como la colitis ulcerosa (27) y autoinmunes como la DMT1, la celiaquía o las alergias. (16), (30)

Esta relación se ha estudiado en investigaciones llevadas a cabo recientemente y cuyos resultados apoyan la hipótesis de que las modificaciones producidas en las bacterias intestinales están relacionadas con la evolución de la enfermedad, observándose que en los niños que presentaban autoanticuerpos frente a los islotes pancreáticos en plasma, se producía un cambio en la composición de las bacterias intestinales asociado a la reacción de autoinmunidad y al avance de la destrucción de las células β . Es decir, según estos estudios los cambios en las poblaciones bacterianas intestinales no serían el factor desencadenante de la enfermedad si no un agravante de la misma que contribuiría a su progresión. (31) La disminución en la diversidad de la microbiota intestinal observada en un estudio realizado en niños finlandeses y estonios que desarrollaron la enfermedad puede observarse en la siguiente imagen: (21)



Kostic, Aleksandar D., et al. "The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes." *Cell host & microbe* 17.2 (2015): 260-273. (39)

El papel modulador de la respuesta autoinmune por parte de la microbiota intestinal se ha comprobado en estudios realizados tanto en animales como en humanos observándose que el uso de probióticos mejoraría el curso de las enfermedades autoinmunes debido principalmente a una disminución de la inflamación así como a una reducción del estrés oxidativo en las células junto con un aumento de la adhesión de proteínas en el intestino, dando lugar a una menor permeabilidad del mismo que favorecería su integridad y su función de barrera selectiva frente a determinados antígenos. (18)

Especies pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las que se han estudiado más ampliamente por ejercer un posible efecto protector frente a enfermedades inflamatorias y autoinmunes como la diabetes (23),(32)

Experimentos llevados a cabo en modelos animales a los que se tomó muestras de heces en tres ocasiones durante los primeros 70 días de vida y previa aparición de la enfermedad, demostraron que los ratones con riesgo genético elevado (ratones BB-DP) presentaban una mayor concentración *Bacteroides*, (33) concretamente de la especie *Bacteroides capillosus* y especies del género *Ruminococcus* y *Eubacterium* en heces, mientras que en las heces del grupo de ratones resistentes a la enfermedad (BB-DR) las especies que abundaban pertenecían a los géneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Pseudobutyrvibrio* pudiendo ejercer un efecto protector frente a la diabetes gracias a su acción probiótica sobre la mucosa intestinal, previniendo de este modo el crecimiento de bacterias patógenas y manteniendo su integridad y función de barrera selectiva frente a determinados microorganismos así como evitar alteraciones inmunológicas. (34)

Tabla 1.1.

Géneros de bacterias cuyas cantidades se diferencian estadísticamente en 1% dentro del nivel de confianza en muestras de heces entre los grupos BB-DR y BB-DP

Approximate genus level: 95% similarity to closest cultured relative	Phyla	% of all BB-DP reads	% of all BB-DR reads	P-value	Fold difference
<i>Bacteroides</i>	Bacteroidetes	6.732	6.101	2.00E-05	1.5
<i>Bifidobacterium</i>	Actinobacteria	0.041	0.940	2.00E-05	16.8
<i>Eubacterium</i>	Firmicutes	4.009	2.050	2.00E-05	2.6
<i>Halothermothrix</i>	Firmicutes	0.126	0.003	2.00E-05	55.0
<i>Lactobacillus</i>	Firmicutes	5.320	8.012	2.00E-05	1.1
<i>Prevotella</i>	Bacteroidetes	0.307	0.630	2.00E-05	1.5
<i>Pseudobutyrvibrio</i>	Firmicutes	0.112	0.453	2.00E-05	3.0
<i>Ruminococcus</i>	Firmicutes	2.302	1.675	2.00E-05	1.9
<i>Spiroplasma</i>	Mollicutes	0.000	0.112	2.00E-05	36
<i>Anaerostipes</i>	Firmicutes	0.127	0.0523	0.000680	3.2
<i>Mucispirillum</i>	Deferribacteres	0.224	0.130	0.000760	2.3
<i>Butyrvibrio</i>	Firmicutes	0.030	0.000	0.000980	13
<i>Proteiniphilum</i>	Bacteroidetes	0.062	0.143	0.001420	1.7
<i>Streptococcus</i>	Firmicutes	0.025	0.081	0.001700	2.4
<i>Turicibacter</i>	Firmicutes	0.654	0.909	0.002040	1.2
<i>Pediococcus</i>	Firmicutes	0.032	0.003	0.003080	14

Approximate genus level: 95% similarity to closest cultured relative	Phyla	% of all BB-DP reads	% of all BB-DR reads	P-value	Fold difference
<i>Sporobacter</i>	Firmicutes	1.396	1.262	0.007040	1.5
<i>Bryantella</i>	Firmicutes	0.838	1.089	0.009580	1.4
% of total reads		22.334	23.645		

BB-DP, ratones bio-breeding propensos a desarrollar diabetes; *BB-DR*, ratones bio-breeding resistentes a la diabetes

Roesch, Luiz FW, et al. "Culture-independent identification of gut bacteria correlated with the onset of diabetes in a rat model." *The ISME journal* 3.5 (2009): 536. (34)

Por otro lado las especies *Bacteroides dorei* y *Bacteroides vulgatus* se han asociado al desarrollo de la enfermedad, observándose una mayor presencia en heces de niños con riesgo genético de sufrir DMT1 y que presentaban dos de los autoanticuerpos en suero relacionados con la diabetes

En un estudio de cohorte realizado en niños finlandeses nacidos en el mismo hospital entre los años 1996 y 2007, los cuales presentaban un mayor riesgo genético de padecer la enfermedad, determinado por la presencia de HLA-DQ y HLA-DR, se analizaron las diferencias en la composición bacteriana encontradas en heces. Para ello se tomaron muestras mensuales de las heces de estos niños a partir del cuarto mes de vida y hasta la edad de 2.2 años. Tras el análisis del ADN aislado de las heces se determinó el genotipo de las bacterias presentes y se observó una mayor presencia de *Bacteroides dorei* y *Bacteroides vulgatus* en las heces de los niños que presentaban al menos dos de los autoanticuerpos asociados a la autoinmunidad producida en la diabetes, la mayoría de los cuales (22 de 29) desarrolló la enfermedad. En el caso de la especie *Bacteroides dorei*, se encontró en una proporción 5 veces mayor en las heces de estos niños respecto a las del grupo control (sin presencia de autoanticuerpos en suero). Estas especies bacterianas se han asociado también a procesos inflamatorios

intestinales responsables de enfermedades como la colitis ulcerosa, síndrome del intestino irritable o la enfermedad celiaca. (33)

La novedad que presenta este estudio respecto al analizado anteriormente es que se ha llevado a cabo en humanos y se ha tenido en cuenta el riesgo genético de los sujetos a estudiar, además el tiempo de análisis ha sido adecuado así como el seguimiento del mismo. El estudio de un mayor número de sujetos así como una comparación con grupos de otras regiones del país y zonas del mundo podría mejorar los resultados.

Estos resultados vuelven a repetirse en un estudio llevado a cabo por la Unidad de Endocrinología y Nutrición del Clínico del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria de la provincia de Málaga y en el que se evaluó las propiedades que poseen algunos tipos de bacterias intestinales sobre el control glucémico en dieciséis niños con diabetes de tipo 1 y otros dieciséis niños sanos de la misma edad y dieta similar. Tras analizar muestras de heces y de sangre de los dos grupos se observó que la cantidad de bacterias esenciales para conservar la integridad intestinal pertenecientes a los géneros Firmicutes y Actinobacteria, era menor en los pacientes pediátricos con diabetes que en los sanos, mientras que el número de bacterias del género Bacteroides aumentaban en el caso de los niños con diabetes. (35)

En la siguiente tabla se muestran diversos estudios llevados a cabo en animales y humanos en los que se observa el papel de distintas especies que conforman la microbiota intestinal y su relación con la DMT1.

Tabla 1.2.

Estudios relacionados con la microbiota intestinal

Bacteria	Animal model/study group	Outcome	Ref.
B. adolescentis DSM 20083	children at risk to develop T1D	probably involved in predisposing children to β cell autoimmunity	[93]
Bacteroidetes	seroconverted subjects	positively associated with islet autoimmunity	[19]
Bacteroides, Eubacterium, Ruminococcus	BB-DP rats	more abundant	[98]
Clostridium hylemonae	BB-DR rats	increased abundance	[98]
Firmicutes, Bacteroidetes	NOD mice	decrease in Firmicutes and an increase in Bacteroidetes	[53]
Bifidobacteria, Clostridium	LEW1. WR1 rat	virus-induced T1D correlates with increased Bifidobacteria and Clostridia	[97]
Bacteroides ovatus, Bacteroides fragilis	T1D children	increase in Bacteroides ovatus and decrease in Bacteroides fragilis	[20]
Firmicutes, Bacteroidetes	T1D children	decreased abundances of Firmicutes; increase abundance of Bacteroidetes	[17, 18]

Bacteria	Animal model/study group	Outcome	Ref.
Prevotella and Akkermansia	T1D children	decreased abundance of Prevotella and Akkermansia in T1D children	[17]
Prevotella	T1D children	Prevotella genus was reduced in patients	[18, 95, 96]
Bifidobacterium, Lactobacillus	T1D children	decreased numbers of Bifidobacterium and Lactobacillus	[95]
Clostridium, Bacteroides, Veillonella	T1D children	increased amount of Clostridium, Bacteroides and Veillonella	[95]
Lactate and butyrate producers	seropositive subjects	lower levels of bacteria involved in the production of lactate and butyrate	[21]
Bacteroides, Prevotella	Mexican children with T1D	high levels of the genus Bacteroides; control group exhibit high levels of Prevotella	[96]
Bifidobacteria	T1D children	reduced Bifidobacteria, increased Enterobacteriaceae in T1D	[94]
Firmicutes	seroconverted subjects	negatively associated with islet autoimmunity	[19]

Bacteria	Animal model/study group	Outcome	Ref.
Faecalibacterium prausnitzii	Children with diabetes-related autoantibodies	reduced abundance in children with two or more diabetes-related autoantibodies	[21]
Bifidobacteria	Children with diabetes-related autoantibodies	negatively associated with β cell autoimmunity	[21]
Bifidobacteria	T1D children	negatively associated with β cell autoimmunity	[94, 95]
Lactic acid bacteria	NOD mice; BB-DP rats	delay or prevent diabetes	[85, 86]
Lactobacillus, Bifidobacterium	BB-DR rats	negatively correlated with T1D onset	[98]
Lactobacillus johnsonii N6.2	BB-DP rats	delayed diabetes onset	[27]
SFB	NOD mice	diabetes protection	[28]
Lactobacillus species	BB rats	negatively correlated with T1D development	[98]
A. muciniphila	NOD mice	protective role in T1D development	[13]

Gülden, Elke, F. Susan Wong, and Li Wen. "The Gut Microbiota and Type 1 Diabetes." *Clinical immunology (Orlando, Fla.)* 159.2 (2015): 143. (15)

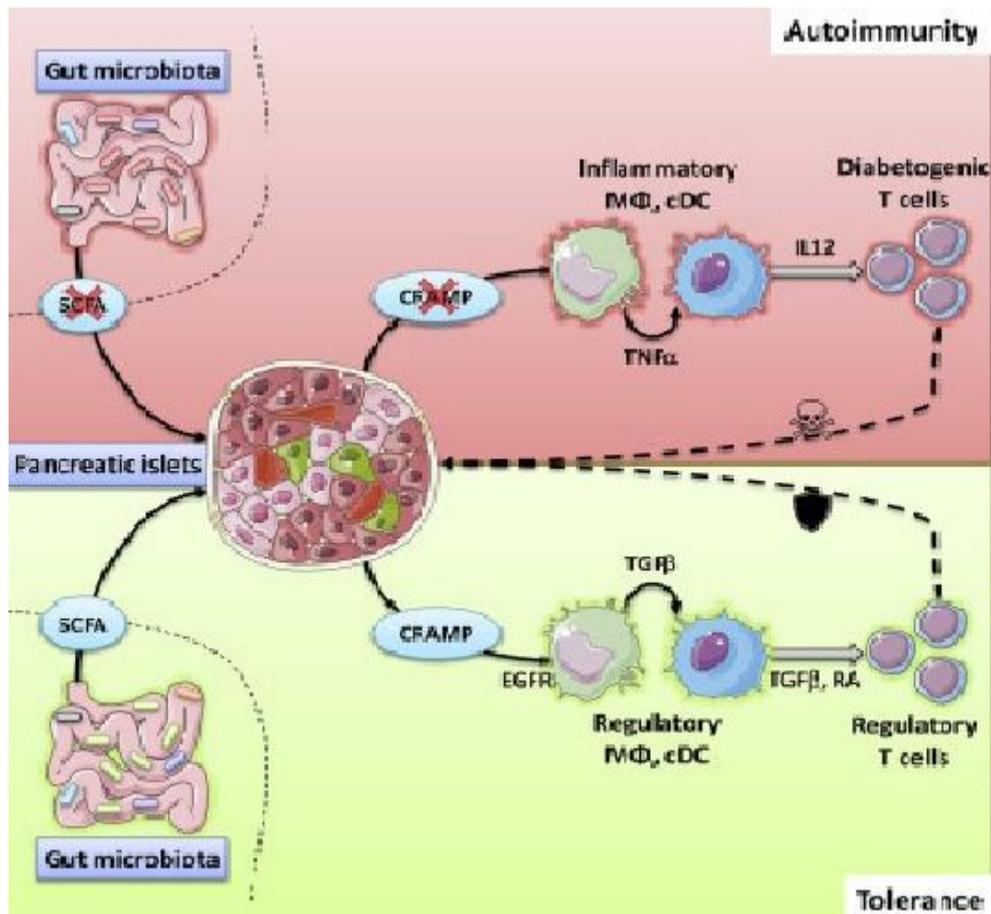
A pesar de los resultados obtenidos es necesario realizar nuevos estudios con un mayor número de sujetos y comprobar si estas conclusiones son reproducibles en otras zonas geográficas y en personas de distintas edades.

1.2. Catelicidina y DMT1

Probablemente una de las investigaciones más recientes y que aporta nuevos datos a la reacción autoinmune responsable de la DMT1, es la publicada en la revista *Immunity* llevada a cabo por un grupo de investigadores de hospitales y universidades de varios países, coordinados por Julien Diana y en la que han estudiado el papel de los péptidos antimicrobianos (AMPs), concretamente de la catelicidina expresada por células β del páncreas, en la regulación de la respuesta autoinmune. Esta producción de péptidos antimicrobianos dependería de la composición de la microbiota intestinal y de la producción de ácidos grasos de cadena corta (SCFAs) por bacterias intestinales. Los péptidos antimicrobianos o AMPs son secretados por células del sistema inmunitario pero también por células epiteliales no inmunológicas y están implicados en la defensa del organismo frente a patógenos, cuyo mecanismo de acción consiste en la desintegración de la membrana celular del microorganismo. (36)

Para llevar a cabo este estudio, se inyectó péptido antimicrobiano similar a catelicidina (CRAMP) por vía intraperitoneal a ratones diabéticos adultos no obesos (NOD), los cuales presentaban una secreción reducida de este péptido en las células β del páncreas, observándose una disminución de linfocitos T CD8⁺ y de IFN γ ⁺ responsables de la respuesta inflamatoria e inmunológica que conlleva la destrucción de células β . Esta regulación del sistema inmunitario da lugar a una menor incidencia de DMT1. Con lo que se determinó que las catelicidinas además del papel protector frente a microorganismos, presentaba también una función de regulación del sistema inmunitario, al controlar la inflamación producida en el páncreas previa a la respuesta autoinmune por parte de las células T. (36)

Este efecto regulador de las catelicidinas en las células β del páncreas se describe de manera esquemática en la siguiente imagen:



Sun, Jia, et al. "Pancreatic β -cells limit autoimmune diabetes via an immunoregulatory antimicrobial peptide expressed under the influence of the gut microbiota." *Immunity* 43.2 (2015): 304-317. (36)

Como se puede observar en la imagen, el efecto regulador de la catelicidina depende de la microbiota intestinal y en concreto de la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales ejercerían un efecto protector sobre los islotes pancreáticos al favorecer la acción inmunoreguladora de las catelicidinas, viéndose este efecto anulado por la disminución de ácidos grasos de cadena corta producidos por bacterias intestinales. Hecho que se confirmó al observarse una menor cantidad de SCFA en el intestino de ratones diabéticos con respecto a aquellos que no presentaban la enfermedad (36)

Por otro lado es necesario tener en cuenta la exposición continua del intestino a antígenos de los alimentos así como microorganismos patógenos y comensales. (37)

1.3. Virus y DMT1

Existen diversos estudios científicos que demuestran la relación directa entre niños con anticuerpos frente a enterovirus y autoanticuerpos frente a células β de los cuales un alto porcentaje desarrolló DMT1, observándose además que los niños con DMT1 contrajeron un mayor número de veces infecciones por enterovirus comparados con niños sanos. Sin embargo las investigaciones realizadas hasta ahora no han podido demostrar que las infecciones por enterovirus sean la causa de la enfermedad. (38)

Los Rotavirus también se han asociado al desarrollo de la enfermedad, siendo virus causantes de infecciones frecuentes en niños. Sin embargo los distintos experimentos realizados en animales no han demostrado ninguna evidencia de esta relación (39)

Por el contrario, existen teorías que apoyan el carácter preventivo de la enfermedad de algunos virus como demuestran los resultados obtenidos en un estudio reciente llevado a cabo con muestras fecales de niños con autoanticuerpos asociados a DMT1, en el que se analizó la diferencia entre el viroma de éstos con un grupo control. Se trata de un estudio longitudinal y prospectivo llevado a cabo con 11 niños de Estonia y Finlandia y el criterio para elegirlos fue que presentaran un mayor riesgo genético de padecer DMT1 asociado a los alelos HLA. El procedimiento a seguir era la recogida periódica, con frecuencia de una vez al mes, de muestras de heces de los niños para su posterior análisis secuencial. Tras analizar las muestras y compararlas con las del grupo control se observó que el viroma de los niños que presentaban autoanticuerpos en suero poseía menor diversidad que el de los niños pertenecientes al grupo control, encontrando en las muestras de estos últimos una mayor concentración de Circoviridae. (40)

1.4. Vitamina D y DMT1

Estudios recientes se han concentrado en determinar la posible relación de la vitamina D, concretamente su déficit en la infancia, con un mayor riesgo de padecer la enfermedad. (11) Así mismo se ha asociado un mayor riesgo de padecer diabetes en niños cuyas madres presentaban bajos niveles de vitamina D. (41)

Esta idea se apoya en la mayor prevalencia de DMT1 entre los niños de los países nórdicos, la cual se observó en un estudio realizado con niños de siete países, siendo los que tomaron suplementos de vitamina D los que presentaron un riesgo menor de padecer la enfermedad, al igual que en otro estudio llevado a cabo con niños finlandeses a los cuales se les administró 2000 IU/día de vitamina D observándose una disminución del riesgo comparado con los que no tomaron suplementos de esta vitamina.(20)

Resultados similares se observaron en un estudio que analizó los datos de incidencia de la diabetes entre los años 1990 y 1994 en jóvenes de 51 regiones del mundo realizado por el Diabetes Mondial Project Group (DiaMond) para determinar la influencia de la vitamina D en la enfermedad, pues los datos epidemiológicos indican una mayor incidencia en los países de latitud más alta, en los que las horas de sol son menores afectando a la síntesis de vitamina D por parte del organismo. (42)

En España, sin embargo, este gradiente es precisamente inverso, con una menor prevalencia en las comunidades autónomas del norte y mayor en las del sur, con más horas de exposición solar. (43)

2. Nuevas líneas terapéuticas en DMT1

2.1. Probióticos

Con el término de probiótico, empleado por primera vez Lilly y Stillwell en el año 1965, se definen aquellos microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas aportan efectos beneficiosos al organismo del huésped.

Tras años de investigaciones se ha determinado que estos microorganismos mejoran el estado de salud en casos de diarrea, dermatitis atópica, estreñimiento, candidiasis vaginal, infecciones de las vías urinarias, cólico del lactante, algunas enfermedades inflamatorias y autoinmunes así como durante y tras un tratamiento con antibióticos para evitar o reducir los efectos negativos sobre la microbiota intestinal asociados a estos fármacos que pueden dar lugar a disbiosis, diarrea y la aparición de otras infecciones. (44), (45), (46)

Una de las aplicaciones más estudiadas de los probióticos en los últimos años es en la prevención y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 1 por su efecto sobre el sistema inmune, comprobándose en investigaciones realizadas en animales y humanos que ejercerían un papel protector frente a la enfermedad gracias a su capacidad de mantener la integridad de la mucosa intestinal impidiendo el paso de determinados antígenos y evitar la colonización por microorganismos patógenos.

Con el fin de evaluar el papel protector de los probióticos frente a la diabetes, Valladares y colaboradores han llevado a cabo un estudio en el que aislaron las especies *Lactobacillus johnsonii* y *Lactobacillus reuteri* del intestino de ratas BioBreeding resistentes a la diabetes (BB-DR) y las administraron diariamente en forma de suspensión (1×10^8 CFU) a dos grupo de ratas susceptible de padecer la enfermedad (ratas BioBreedign BB-DP), el grupo 1 formado por ratas que se alimentaban de leche materna (desde el primer día de vida hasta el 141) y el 2 constituido por ratas que ya habían finalizado la lactancia materna (a partir del día 21 hasta el 141). A su vez a algunos miembros de cada grupo se les administró *L. johnsonii* y a otros *L. reuteri*. Tras analizar la composición de la flora intestinal del íleon de las ratas que desarrollaban la enfermedad y de aquellas que tras los 141 días que duró el estudio seguían sanas, se observó una relación inversamente proporcional entre la presencia de *Lactobacillus Johnsonii* N6.2 y el desarrollo de diabetes pero sólo en el grupo 2, así como una acción protectora frente a la oxidación de la mucosa intestinal con disminución de citocinas proinflamatorias IFN γ , relacionadas con una reducción de iNOS y aumento de la COX2 y de claudinas,(37) proteínas de unión de las células epiteliales del intestino, fundamentales para mantener integridad y función barrera de este órgano y preservar el estado de salud del organismo.(47) Sin embargo la administración de *L. reuteri* no demostró una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de estudio y el control.

Especies del género *Lactobacillus* se hallaron en mayor cantidad en la mucosa intestinal de todos los animales que no desarrollaron la enfermedad mientras que todas los animales diabéticos poseían una concentración elevada de enterobacterias. Por otro lado no se encontraron diferencia en la composición bacteriana de las heces de los distintos grupos analizados. (37)

El uso de probióticos en DMT1 además de por sus propiedades antiinflamatorias y

su efecto protector frente a la reacción autoinmune causante de la enfermedad, serían útiles además para prevenir la osteoporosis inducida por DMT1 en estos pacientes, gracias a su efecto beneficioso sobre la salud ósea. Efecto que se demostró en un estudio llevado a cabo en ratones adultos de sexo masculino a los que se indujo diabetes, observándose que la administración de *L. reuteri* ATCC 6475 aumentaba la densidad ósea en ratones diabéticos con osteoporosis probablemente mediante activación de las vías anabólicas al prevenir la disminución de expresión de la proteína Wnt10b implicada en la regulación de la diferenciación de osteoblastos. (48)

2.2. Carnosina (β -alanil-L-histidina) y carcinina (β -alanilhistamina)

Se ha comprobado que las hiperglicemias prolongadas dan lugar al fenómeno de glicación de proteínas con la formación de AGEs que son moléculas altamente reactivas pudiendo dar lugar a un aumento de moléculas proinflamatorias y radicales libres aumentando la oxidación de las células. Los AGEs da lugar a agregación de proteínas, alteración de actividad enzimática, acumulación en pared arterial, interacción con receptores de la membrana plasmática interfiriendo en las señales intracelulares y en la expresión genética y unión a lípidos de membrana, ácidos nucleicos y proteínas de larga vida como el colágeno, alterando su estructura y función. (49)

La carcinina (β -alanilhistamina) es un dipéptido imidazólico, derivado activo de la carnosina (β -alanil L-histidina), resistente a dipeptidasas (carnosinasas séricas y tisulares) y con mayor biodisponibilidad que la carnosina. La carcinina posee una acción protectora frente a la peroxidación lipídica y a la glicación y glicoxilación de proteínas, proceso común en personas diabéticas como consecuencia de las hiperglicemias, previniendo de este modo la formación de productos finales de glicación (AGEs) moléculas altamente reactivas que se acumulan en suero y tejidos y están involucrados en procesos inflamatorios y producción de ROS dando lugar a un aumento de estrés oxidativo implicado en el envejecimiento y daño celular. Se ha estudiado la implicación de la carcinina en la prevención y reducción de complicaciones derivadas de enfermedades metabólicas, observándose una disminución del daño renal o vascular en enfermedades como la diabetes, así como una acción protectora frente a procesos inflamatorios y oxidativos a nivel sistémico.

La capacidad antioxidante y protectora de esta molécula frente a angiopatías y nefropatías derivadas de la diabetes, se estudió en ratones Apoe-null, usando para ello la molécula de DCO (d-Carnosine-octylester) y observando su actividad en cuatro grupos, constituido cada uno por 10 ratones diabéticos. En uno de ellos los ratones no fueron tratados mientras que el resto fueron tratados según el grupo con DCO durante 20 semanas (DCO-Extended), otro solamente recibió tratamiento desde la semana 1 a la 11 (DCO-Early) y el último desde la semana 9 a la 19 (DCO-late) siendo los ratones Apoe-null no diabéticos el grupo control. Transcurrido el tiempo del estudio se evaluó el daño renal y aórtico mediante análisis morfométrico, observándose en los ratones DCO-Extended, una placa de ateroma más estable que en el resto de grupos así como una disminución de la lesión renal. Por otro lado se analizó la expresión genética y proteica con PCR a tiempo real y mediante inmunohistoquímica confirmándose un descenso de células apoptóticas y de marcadores de inflamación y daño oxidativo en estos ratones. (50)

Otro estudio llevado a cabo en fumadores usando carnosina no hidrolizada y carcinina demostró que estas dos moléculas ejercerían un efecto modulador de la actividad telomerasa protegiendo tamaño y estructura de los telómeros ejerciendo un efecto protector frente al estrés oxidativo. (51)

DISCUSIÓN

A pesar de los numerosos avances científicos sobre las bases bioquímicas de la diabetes y los factores genéticos y mecanismos inmunopatogénicos implicados en la respuesta autoinmune, el origen de esta patología sigue siendo uno de los retos más complejos al que se enfrentan los investigadores dedicados al estudio de las enfermedades autoinmunes.

Se han identificado numerosos factores ambientales como posibles causas de la aparición y desarrollo de la DMT1 pero a pesar de las numerosas investigaciones no existe en la actualidad una teoría válida que avale ninguno de los factores de riesgos estudiados. Esto es debido a la complejidad de la enfermedad en la cual se ven implicados más de 40 polimorfismos y diversos factores ambientales.

Pero algo en lo que coinciden los científicos es que la genética no puede explicar el aumento en la incidencia de esta enfermedad observado en los últimos años como demuestran diversos estudios, siendo este incremento del 21% entre los jóvenes menores de 20 años en distintas regiones de Estados Unidos entre 2001 y 2009, independientemente de la raza y el sexo de los participantes. Por lo que es preciso estudiar los factores nutricionales y ambientales responsables de este gran aumento en tan poco tiempo. (52)

El microbioma humano se compone de distintos tipos de microorganismos, cuya carga genética supone un valor de hasta 100 veces más que la del propio genoma humano (53), siendo la población bacteriana de aproximadamente 1,5 kg, con lo que no es extraño suponer que cambios en esta población puedan producir alteraciones no solo a nivel intestinal sino también en órganos relacionados, como el páncreas, así como asociarse a diversas enfermedades autoinmunes, como la DMT1. (40)

Los resultados obtenidos en el estudio llevado a cabo por Julien Diana y colaboradores, en el que se confirma que los cambios en la composición de la microbiota intestinal que conlleven una disminución o inhibición de la producción de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) generarían una reducción de catelicidinas que daría lugar a un proceso inflamatorio y una disminución de la regulación de la respuesta inmunológica con activación de células T de manera incontrolada, responsables de la destrucción de las células β pancreáticas y del desarrollo de la DMT1, son fundamentales para confirmar la implicación de microbiota y DMT1, sin embargo se necesita seguir investigando en esta línea para confirmar resultados en humanos, pues éste se llevó a cabo únicamente en ratones.(36)

La vitamina D es uno de los factores que se ha relacionado con la aparición de la enfermedad siendo su déficit en edades tempranas una de las causas propuestas por distintos investigadores. Esta asociación nace probablemente de la naturaleza de esta vitamina así como de las funciones que ejerce en el organismo. El hecho de que su síntesis esté regulada por el sol, llevó a la pregunta de si estaría implicada en la mayor incidencia de DMT1 en los países más septentrionales, como es el caso de Finlandia presentando el mayor número de casos de diabetes. (42)

Sin embargo, a pesar de los resultados obtenidos en numerosos estudios que relacionan el déficit de esta vitamina con un mayor riesgo de padecer la enfermedad, esto no explicaría el hecho de que regiones con un elevado número de horas de sol anuales presenten una incidencia elevada como es el caso de Cerdeña, que ocupa el segundo lugar a nivel mundial de casos de DMT1 (54)

Algunas investigaciones han postulado un mayor riesgo de diabetes en niños cuyas madres presentaban valores bajos de vitamina D, comprobándose que los suplementos de esta vitamina ejercían un efecto protector frente a la enfermedad.(41) Aunque en otras investigaciones no se ha encontrado relación entre la administración de vitamina y un menor riesgo de desarrollar autoinmunidad frente a las células β de los islotes pancreáticos, como demuestra el estudio DAISY (The Diabetes Autoimmunity Study in the Young) llevado a cabo en Denver. Siendo necesario un mayor número de estudios que permitan establecer esta relación. (55)

Por otra parte, en la actualidad existen diversas líneas de investigación con el objetivo de desarrollar nuevas dianas de estrategia terapéutica.

Uno de las moléculas que podría presentar características útiles para prevenir el daño asociado a la diabetes es la Carcinina, derivada de la Carnosina siendo una de sus propiedades la capacidad de secuestrar especies reactivas de oxígeno y aldehídos derivados de la peroxidación de ácidos grasos de las membranas celulares como consecuencia del estrés oxidativo, protegiendo de este modo al organismo de la oxidación así como a los lípidos de membranas.(36),(50) Por lo que seguir investigando los posibles efectos beneficiosos que esta molécula aportaría a los pacientes diabéticos sería una propuesta interesante para futuras tratamientos de la enfermedad.

Pero no sólo en la búsqueda de nuevas estrategias para el tratamiento de la enfermedad se han concentrado los últimos estudios, si no que existen científicos que investigan las causas que desencadenan la enfermedad para poder así frenar su desarrollo. Este es el caso de los estudios de los factores que desencadenan la enfermedad, siendo uno de los más estudiados en la última década, la composición de la microbiota intestinal como mecanismo modulador de la reacción autoinmune que ocurre en la diabetes.

La prevención y posible tratamiento de la enfermedad mediante el uso de probióticos constituyen actualmente una de las líneas de investigación que mayor interés despiertan, para lo cual se han realizado numerosos estudios en animales y humanos con el objetivo de identificar especies bacterianas presentes en el intestino y que puedan de alguna forma estar implicadas en la prevención de la respuesta autoinmune. En muchos de estos estudios se citan géneros bacterianos con mayor o menor presencia en sujetos que padecen diabetes o con un riesgo genético de padecerla, sin embargo es necesario identificar cuáles son las especies que podrían jugar un papel importante tanto a nivel intestinal, protegiendo la integridad de la mucosa y preservando su función, como sobre el sistema inmune ejerciendo una función moduladora de la respuesta autoinmune. (34)

Interesantes resultados se observaron en el estudio de Valladares y colaboradores en el que se determinó que la administración de *Lactobacillus johnsonii* retrasa o previene el inicio de la enfermedad y se relaciona con una disminución de citoquinas pro-inflamatorias como el IFN γ . A pesar de que el estudio se haya llevado a cabo en modelos animales la gran diferencia entre la expresión del IFN γ , de hasta 20 veces mayor en los animales diabéticos en comparación con los que fueron alimentados con *L. johnsonii* indica que es necesario seguir realizando investigaciones con esta especie y no sólo en modelos animales. Además el hecho de que no se establecieran diferencias estadísticamente significativas entre el grupo tratado con *L. johnsonii* N6.2 y el control apuntaría al origen de un proceso inflamatorio intestinal como un posible factor necesario para el desarrollo de la reacción de autoinmunidad. (37)

1. Limitaciones

La limitación común de todos los estudios llevados a cabo en humanos analizados en esta revisión es que el número de participantes no era muy representativo.

Por otro lado se han analizado también investigaciones realizadas en modelos animales que han aportado nuevos resultados que permiten entender mejor la patogenia de la enfermedad, sin embargo sería necesario repetir alguno de ellos en humanos para comprobar la validez de los mismos.

2. Perspectivas futuras

A pesar de las evidencias que relacionan cambios en la composición de la microbiota intestinal con el inicio de la enfermedad y el uso de probióticos para prevenirla, tratarla o retrasar su inicio, aún existen muchas dudas por despejar y se desconocen los posibles mecanismos mediante los cuales estos microorganismos modularían la respuesta inflamatoria y del sistema inmune.

Por otro lado seguir investigando sobre el uso de antioxidantes que eviten la acción de los productos de glicación tardía (AGEs) que aparecen como consecuencia de las hiperglicemias frecuentes en los pacientes diabéticos, podría proporcionar una mejora en la prevención de las graves consecuencias derivadas de la enfermedad o retrasar su aparición mejorando las expectativas de vida de la población diabética en general, pues estos efectos son aplicables también a la diabetes de tipo 2. (49)

Estudiar en profundidad el papel de los distintos factores ambientales implicados en el desarrollo de la enfermedad es fundamental para lograr establecer un plan de prevención y un tratamiento eficaz.

Sin embargo dado que ningún estudio ha identificado hasta el momento la causa de la misma, se podrían plantear investigaciones en las que se analicen varios de los factores de manera conjunta en lugar de realizarlo individualmente pudiendo así obtener mayor información y correlación entre ellos. Además sería interesante realizar análisis epidemiológicos que aportasen información sobre posibles cambios en los últimos años en la composición de los alimentos así como en las infecciones víricas durante los primeros años de vida para observar modificaciones que pudiesen aportar novedades y respuestas a las investigaciones sobre diabetes.

CONCLUSIÓN

Numerosos estudios científicos han asociado el desarrollo de la DMT1 con situaciones de disbiosis intestinal, no habiéndose establecido aún si esta alteración en la microbiota intestinal es una consecuencia de la enfermedad o puede ser un desencadenante o agravante de la misma. Realizar investigaciones con un mayor número de individuos es necesario para descubrir el papel que juega la microbiota intestinal en etapas tempranas de la enfermedad así como para intentar buscar alternativas para un posible tratamiento y prevención de la misma.

Seguir investigando sobre éste y otros posibles factores responsables de desencadenar la respuesta inmunológica que da lugar al ataque y destrucción de las células β del páncreas, es fundamental para entender desde el origen la enfermedad y poder desarrollar nuevas líneas terapéuticas eficaces para prevenir o frenar la diabetes así como reducir las patologías asociadas a la misma, las cuales contribuyen a una reducción de la calidad y expectativa de vida de estos pacientes, como demuestra un estudio reciente realizado en Escocia y en el que se estimó que los hombres diabéticos a los 20 años de edad, presentaban de media una expectativa de vida de 11.1 años menos que los que no sufrían la enfermedad, siendo este dato de 12.9 años para las mujeres diabéticas. (56)

La compleja estructura del páncreas dificulta el estudio de la enfermedad, siendo aún un misterio el hecho de que la reacción de autoinmunidad se produzca de manera selectiva sobre las células β de los islotes de Langerhans mientras los otros grupos celulares no sufren ningún daño pese a su cercanía.

Para dar explicación a los procesos que desencadenan la reacción de autoinmunidad es necesario incrementar el número de estudios en humanos para seguir investigando la función protectora de la microbiota intestinal así como de posibles tratamientos con probióticos. Estos estudios deberían incluir un mayor número de sujetos de ambos sexos, de distintas edades y diversas zonas geográficas así como tener en cuenta el tiempo de evolución de la enfermedad en cada grupo.

A pesar de las numerosas investigaciones realizadas, ninguna de ellas ha permitido desarrollar un tratamiento eficaz para acabar con la enfermedad o prevenirla. (19)

Y dadas las numerosas complicaciones derivadas de esta patología que merman notablemente la calidad y esperanza de vida de estos pacientes, la cura y la prevención de la DMT1 tienen que ser cada día más un objetivo real y presente en los distintos estudios científicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Soltesz, G., C. C. Patterson, and G. Dahlquist. "Worldwide childhood type 1 diabetes incidence—what can we learn from epidemiology?." *Pediatric diabetes* 8.s6 (2007): 6-14.
2. Atkinson, Mark A., George S. Eisenbarth, and Aaron W. Michels. "Type 1 diabetes." *The Lancet* 383.9911 (2014): 69-82.
3. Tang, Aiping, et al. "Anti-CD20 monoclonal antibody combined with adenovirus vector-mediated IL-10 regulates spleen CD4+/CD8+ T cells and T-bet/GATA-3 expression in NOD mice." *Molecular Medicine Reports* 16.4 (2017): 3974-3982.
4. Ali, Mohammad Alhadj, et al. "Metabolic and immune effects of immunotherapy with pro-insulin peptide in human new-onset type 1 diabetes." *Science Translational Medicine* 9.402 (2017): eaaf7779.
5. J.C. Barrett, D.G. Clayton, P. Concannon, B. Akolkar, J.D. Cooper, H.A. Erlich, et al., Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes, *Nat. Genet.* 41 (2009) 703e707.
6. Onengut-Gumuscu, Suna, et al. "Fine mapping of type 1 diabetes susceptibility loci and evidence for colocalization of causal variants with lymphoid gene enhancers." *Nature genetics* 47.4 (2015): 381.
7. Kawahito S, Kitahata H, Oshita S. Problems associated with glucose toxicity: Role of hyperglycemia-induced oxidative stress. *World Journal of Gastroenterology: WJG.* (2009);15(33):4137-4142. doi:10.3748/wjg.15.4137.
8. Paun, Alexandra, Christopher Yau, and Jayne S. Danska. "Immune recognition and response to the intestinal microbiome in type 1 diabetes." *Journal of autoimmunity* 71 (2016) 10-18.
9. Yeung, Wing-Chi G., William D. Rawlinson, and Maria E. Craig. "Enterovirus infection and type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of observational molecular studies." *Bmj* 342 (2011): d35.
10. Zamboni, Fernanda, and Maurice N. Collins. "Cell based therapeutics in type 1 diabetes mellitus." *International journal of pharmaceutics* 521.1 (2017): 346-356.
11. Nejentsev, Sergey, et al. "Localization of type 1 diabetes susceptibility to the MHC class I genes HLA-B and HLA-A." *Nature* 450.7171 (2007): 887.
12. Todd, John A. "Etiology of type 1 diabetes." *Immunity* 32.4 (2010): 457-467.

13. Rodriguez-Calvo, Teresa, et al. "The viral paradigm in type 1 diabetes: Who are the main suspects?." *Autoimmunity reviews* 15.10 (2016): 964-969.
14. Wang, Zhen, et al. "Beyond genetics: What causes type 1 diabetes." *Clinical reviews in allergy & immunology* 52.2 (2017): 273-286.
15. Gülden, Elke, F. Susan Wong, and Li Wen. "The Gut Microbiota and Type 1 Diabetes." *Clinical immunology (Orlando, Fla.)* 159.2 (2015): 143.
16. Kondrashova, Anita, et al. "The 'Hygiene hypothesis' and the sharp gradient in the incidence of autoimmune and allergic diseases between Russian Karelia and Finland." *Apmis* 121.6 (2013): 478-493.
17. Patelarou, Evridiki, et al. Current evidence on the associations of breastfeeding, infant formula, and cow's milk introduction with type 1 diabetes mellitus: a systematic review. *Nutrition Reviews* (2012) 70.9: 509-519.
18. Gomes, Aline Corado, et al. "Gut microbiota, probiotics and diabetes." *Nutrition journal* 13.1 (2014): 60
19. Wen, Li, et al. "Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes." *Nature* 455.7216 (2008): 1109.
20. Grant, William B. "The role of geographical ecological studies in identifying diseases linked to UVB exposure and/or vitamin D." *Dermato-endocrinology* 8.1 (2016): e1137400.
21. Kostic, Aleksandar D., et al. "The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes." *Cell host & microbe* 17.2 (2015): 260-273.
22. Censin, J. C., et al. Childhood adiposity and risk of type 1 diabetes: A Mendelian randomization study. *PLoS medicine* (2017) 14.8: e1002362.
23. Bubnov, Rostyslav V., et al. "Probiotics and immunity: provisional role for personalized diets and disease prevention." *EPMA Journal* 6.1 (2015): 14.
24. Barr, Elizabeth LM, et al. "Risk of cardiovascular and all-cause mortality in individuals with diabetes mellitus, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance." *Circulation* 116.2 (2007): 151-157.
25. Nyström, Thomas, et al. "Estimated glucose disposal rate predicts mortality in adults with type 1 diabetes." *Diabetes, Obesity and Metabolism* (2017).
26. Heller, Tabitha, et al. "Mortality and its Causes in a German Cohort with Diabetes Mellitus Type 1 after 20 Years of Follow-Up: The JEVIN Trial." *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* (2017).

27. Maslowski, Kendle M., et al. "Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43." *Nature* 461.7268 (2009): 1282.
28. Becattini, Simone, Ying Taur, and Eric G. Pamer. "Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease." *Trends in molecular medicine* 22.6 (2016): 458-478.
29. Human Microbiome Project Consortium. "Structure, function and diversity of the healthy human microbiome." *nature* 486.7402 (2012): 207.
30. Soyucen, Erdogan, et al. "Differences in the gut microbiota of healthy children and those with type 1 diabetes." *Pediatrics International* 56.3 (2014): 336-343.
31. Knip M, Siljander H The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* (2016) 12:154–167.
32. Ashraf, Rabia, and Nagendra P. Shah. "Immune system stimulation by probiotic microorganisms." *Critical reviews in food science and nutrition* 54.7 (2014): 938-956.
33. Davis-Richardson, Austin G., et al. "Bacteroides dorei dominates gut microbiome prior to autoimmunity in Finnish children at high risk for type 1 diabetes." *Frontiers in microbiology* 5 (2014).
34. Roesch, Luiz FW, et al. "Culture-independent identification of gut bacteria correlated with the onset of diabetes in a rat model." *The ISME journal* 3.5 (2009): 536
35. Murri, Mora, et al. "Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study." *BMC medicine* 11.1 (2013): 46.
36. Sun, Jia, et al. "Pancreatic β -cells limit autoimmune diabetes via an immunoregulatory antimicrobial peptide expressed under the influence of the gut microbiota." *Immunity* 43.2 (2015): 304-317.
37. Valladares, Ricardo, et al. "Lactobacillus johnsonii N6. 2 mitigates the development of type 1 diabetes in BB-DP rats." *Plos one* 5.5 (2010): e10507.
38. Rodriguez-Calvo, Teresa, and Matthias G. von Herrath. "Enterovirus infection and type 1 diabetes: closing in on a link?." *Diabetes* 64.5 (2015): 1503-1505.
39. Pane, Jessica A., et al. "Rotavirus acceleration of type 1 diabetes in non-obese diabetic mice depends on type I interferon signalling." *Scientific reports* 6 (2016).
40. Zhao, Guoyan, et al. "Intestinal virome changes precede autoimmunity in type I diabetes-susceptible children." *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2017): 201706359

41. Dong, Jia-Yi, et al. "Vitamin D intake and risk of type 1 diabetes: a meta-analysis of observational studies." *Nutrients* 5.9 (2013): 3551-3562.
42. Mohr, S. B., et al. "The association between ultraviolet B irradiance, vitamin D status and incidence rates of type 1 diabetes in 51 regions worldwide." *Diabetologia* 51.8 (2008): 1391-1398.
43. Conde Barreiro D, Rodriguez Rigual M, Bueno Lozano G y col. Epidemiología de la Diabetes Mellitus tipo 1 en Menores de 15 años en España. *An Pediatr (Barc)*. 2014;81(3):189.e1-189.e12)
44. Amara, A. A., and A. Shibl. "Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management." *Saudi pharmaceutical journal* 23.2 (2015): 107-114
45. Narayan, Sujatha S., et al. "Probiotics: current trends in the treatment of diarrhoea." *Hong Kong Med J* 16.3 (2010): 213-218.
46. de Weerth, Carolina, et al. "Intestinal microbiota of infants with colic: development and specific signatures." *Pediatrics* 131.2 (2013): e550-e558
47. Lu, Zhe, et al. "Claudins in intestines: distribution and functional significance in health and diseases." *Tissue barriers* 1.3 (2013): e24978.
48. Zhang, Jing, et al. "Loss of bone and Wnt10b expression in male type 1 diabetic mice is blocked by the probiotic *Lactobacillus reuteri*." *Endocrinology* 156.9 (2015): 3169-3182.
49. Singh, Varun Parkash, et al. "Advanced glycation end products and diabetic complications." *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology* 18.1 (2014): 1-14.
50. Menini, Stefano, et al. "Protection from diabetes-induced atherosclerosis and renal disease by D-carnosine-octylester: effects of early vs late inhibition of advanced glycation end-products in Apoe-null mice." *Diabetologia* 58.4 (2015): 845-853.
51. Babizhayev, Mark A. "The detox strategy in smoking comprising nutraceutical formulas of non-hydrolyzed carnosine or carcinine used to protect human health." *Human & experimental toxicology* 33.3 (2014): 284-316.
52. Dabelea, Dana, et al. "Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009." *Jama* 311.17 (2014): 1778-1786.
53. Maynard, Craig L., et al. "Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system." *Nature* 489.7415 (2012): 231.
54. Songini, Marco, and Cira Lombardo. "The Sardinian way to type 1 diabetes." *Journal of diabetes science and technology* 4.5 (2010): 1248-1255.

55. Simpson, M., et al. "No association of vitamin D intake or 25-hydroxyvitamin D levels in childhood with risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY)." *Diabetologia* 54.11 (2011): 2779.
56. Livingstone SJ, Levin D, Looker HC, et al. Estimated Life Expectancy in a Scottish Cohort With Type 1 Diabetes, 2008-2010. *JAMA*. (2015);313(1):37-44. doi:10.1001/jama.2014.16425.