

Estudio exploratorio sobre los *phyla* más abundantes de la microbiota intestinal en pacientes diabéticos tipo 1 clasificados según su nivel de HbA1c

Exploratory study of the most abundant phyla in the gut microbiota of type 1 diabetic patients classified by HbA1c level

Melina Saban^{1,2}, Glenda Ernst^{3,4}, Marina Curriá⁵, Mara Roxana Rubinstein⁶

RESUMEN

Introducción: la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) se caracteriza por la destrucción de las células β del páncreas. La microbiota es el conjunto de microorganismos (comensales, simbióticos y patógenos) que colonizan el organismo. Recientemente se describió la participación de la microbiota en la DM y una diferente composición microbiana en pacientes con DM1 con buen control glucémico versus aquellos que no lo tienen. Por otro lado, la mayoría de los estudios de microbiota se realizó en países industrializados, lo que muestra una falta de datos provenientes de nuestro país.

Objetivos: se realizó un estudio transversal para determinar la composición microbiana a través del estudio de los *phyla* más abundantes en pacientes con DM1 según sus niveles de HbA1c y en individuos control del área metropolitana de Buenos Aires.

Materiales y métodos: se reclutaron voluntarios no obesos con o sin DM1, mayores de 18 años del Servicio de Endocrinología, Metabolismo, Nutrición y Diabetes del Hospital Británico de Buenos Aires. Se obtuvieron las variables demográficas, medidas antropométricas, datos de laboratorio y fue entregada la correspondiente muestra de materia fecal. La composición microbiana se determinó por PCR en tiempo real utilizando *primers* específicos para los *phyla* más abundantes de la microbiota.

Resultados: los resultados mostraron mayores niveles de *Actinobacteria* para el grupo diabético con mal control glucémico ($p < 0,05$), sin encontrarse cambios significativos en los niveles de *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Proteobacteria*. Asimismo, al analizar la correlación entre los resultados y los niveles de HbA1c en los individuos con DM1, se hallaron correlaciones positivas con *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y negativa con la relación *Firmicutes/Bacteroidetes*.

Conclusiones: existen alteraciones en la microbiota de los pacientes con DM1. Se han establecido relaciones entre la microbiota y la HbA1c. De acuerdo con la literatura, resultados similares se obtuvieron en ensayos realizados en otras poblaciones.

Palabras clave: diabetes mellitus tipo 1; microbiota; control glucémico.

ABSTRACT

Introduction: type 1 diabetes mellitus (T1D) is characterized by the destruction of the pancreatic β -cells. The microbiota is the group of microorganisms (commensals, symbionts and pathogens) that colonize our organism. Recently, the involvement of microbiota in diabetes and a different microbial composition in T1D patients with good glycemic control versus those without has been described. On the other hand, most of the microbiota studies were performed in industrialized countries, showing a lack of data from our country.

Objectives: a cross-sectional study was conducted to determine the microbial composition by studying the most abundant phyla in patients with DM1 according to their HbA1c levels and in control individuals from the metropolitan area of Buenos Aires.

Materials and methods: non-obese volunteers with or without T1D over 18 years of age were recruited at the Endocrinology, Metabolism, Nutrition and Diabetes Service of Hospital Británico, Buenos Aires. Demographic variables, laboratory data and anthropometric measurements were obtained, and a stool sample was submitted. Microbial composition was determined by real-time PCR using primers specific to the most abundant phyla of the microbiota.

Results: the results showed higher levels of *Actinobacteria* in the diabetic group with poor glycemic control ($p < 0.05$), with no significant changes in the levels of *Bacteroidetes*, *Firmicutes* and *Proteobacteria*. Similarly, when analyzing the correlation between the results and HbA1c levels in individuals with T1D, positive correlations were found with *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* and negative correlation with the *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio.

Conclusions: there are alterations in the microbiota in patients with T1D and we have established relationships between microbiota and HbA1c in T1D patients. According to the literature, similar results have been obtained in studies conducted in other populations.

Key words: type 1 diabetes mellitus; microbiota; glycemic control.

- ¹ Médica endocrinóloga, staff del Servicio de Endocrinología, Metabolismo, Nutrición y Diabetes, Hospital Británico de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
- ² Comité Revisor Científico, Hospital Británico de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
- ³ Doctora Universitaria, Comité Revisor Científico, Hospital Británico de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
- ⁴ Investigadora Independiente, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
- ⁵ Doctora Universitaria, Médica endocrinóloga, Jefa del Servicio de Endocrinología, Metabolismo, Nutrición y Diabetes, Hospital Británico de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

- ⁶ Doctora Universitaria, Laboratorio de Psiconeuroendocrinoinmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas (BIOMED), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Pontificia Universidad Católica Argentina (UCA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Contacto de la autora: Mara Roxana Rubinstein

E-mail: roxana.rubinstein@conicet.gov.ar

Fecha de trabajo recibido: 13/1/2025

Fecha de trabajo aceptado: 5/7/2025

Conflictos de interés: las autoras declaran que no existe conflicto de interés.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de alteraciones metabólicas que se caracteriza por hiperglucemia crónica. La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) se define por la destrucción de las células β productoras de insulina del páncreas, generando deficiencia de la misma.

Se estima que la prevalencia de DM1 en el mundo es de 8,4 millones de personas, mientras que la incidencia ha aumentado significativamente en los últimos 50 años y se infiere que actualmente es de 15 cada 100000 personas¹. La *International Diabetes Federation* (IDF) calcula que en la Argentina hay 86000 jóvenes menores de 19 años con DM1². La *American Diabetes Association* (ADA) recomienda como objetivo glucémico un valor de hemoglobina A1c glucosilada (HbA1c) menor a 7%, siempre que no se presenten hipoglucemias³.

La microbiota es el conjunto de microorganismos (comensales, simbióticos y patógenos) presentes en el organismo. En particular, se encontró que la microbiota intestinal participa en la síntesis de vitaminas y nutrientes, digiere la fibra alimentaria y participa en el mantenimiento del epitelio intestinal. Asimismo, interviene en la defensa intestinal contra patógenos y puede modular el sistema inmune, teniendo un papel fundamental en su desarrollo y en la regulación de las respuestas inflamatorias⁴⁻⁶. También se detectó una asociación entre una microbiota desbalanceada y varias patologías, como la enfermedad de Crohn, alergias, trastornos comportamentales, enfermedades cardiovasculares, obesidad y DM, entre otras⁷.

La exposición a los microorganismos que dará origen a la microbiota comienza con el nacimiento, pero luego es modificada por distintos factores como la dieta, el uso de antibióticos y el condicio-

namiento genético, entre otros⁸. Los microorganismos presentes en el intestino son principalmente bacterias, el 90% de las cuales corresponden a los *phyla Firmicutes* y *Bacteroidetes*⁹⁻¹¹. Cada individuo tiene una composición de microbiota intestinal distinta y muy variable, aunque todas las personas comparten una serie de microorganismos comunes básicos^{9,12}. Asimismo, existe una variación temporal y espacial en la composición y distribución de la microbiota a lo largo del sistema digestivo¹³. En el esófago y el estómago el número de bacterias es de aproximadamente $1 \times 10^{11}/g$ y aumenta a $1 \times 10^{12}/g$ en el colon.

Diferentes estudios hallaron una relación entre la DM1 y la microbiota. Trabajos realizados con modelos animales con DM mostraron una alteración en la microbiota^{14,15}. Incluso, diversos estudios encontraron una disminución en la diversidad microbiana en pacientes con DM1 comparados con controles sanos, y resultados contrarios en relación a la abundancia de *Bacteroidetes* y de *Firmicutes*¹⁶⁻²⁰.

En un estudio realizado recientemente en Polonia en pacientes con DM1 tratados con bombas de insulina, se encontraron diferencias en la composición microbiana y en los índices de diversidad en pacientes con una HbA1c <7% y aquellos que lo superaban²¹. Por otro lado, en un estudio realizado en Brasil, se hallaron diferencias en la composición de la microbiota en pacientes con DM1 y en controles sanos. A su vez, hubo una correlación entre la abundancia relativa de *Bacteroidetes* y *Lactobacillales* con el dosaje de la HbA1c²². Asimismo, un reporte de caso mostró que el trasplante de microbiota fecal ha sido efectivo en un paciente con DM1, mejorando los niveles de glucemia y de la HbA1c²³. Un análisis sistemático que incluyó nueve trabajos encontró una relación

inversa con bacterias del género *Bifidobacterium* y una relación positiva con bacterias del género *Bacteroides* y *Prevotella* con respecto a los niveles de la HbA1c²⁴. Estos estudios demuestran que existe una relación entre la composición microbiana y el control glucémico, sugiriendo que la modificación de la microbiota podría ser un complemento en el tratamiento para los pacientes con DM.

En este sentido, se han realizado estudios administrando probióticos a niños y adolescentes con DM1, evaluando la glucemia y la HbA1c pre y posintervención. En algunos, los resultados reflejaron una ventaja en el control glucémico posintervención^{25,26}, mientras que en otros no se encontró esta corrección^{27,28}. Estos resultados contradictorios pueden deberse a las diferentes cepas de probióticos utilizadas, las dosis, el tiempo de intervención y a la heterogeneidad de las poblaciones. Por estos motivos, es necesario conocer la composición microbiana para determinar el tipo de intervención a aplicar.

Por otro lado, hay que destacar que la gran mayoría de estudios realizados hasta el momento sobre la microbiota se ha realizado en países industrializados de América del Norte, Europa y China lo que denota una falta de datos provenientes de América Latina y de nuestro país en particular. Abdill et al. analizaron el país de origen de las muestras humanas usadas en los estudios de la microbiota y hallaron que el 71 % de las mismas proviene de Estados Unidos, Canadá y Europa, a pesar de que representan un 14,3% de la población²⁹. Con respecto a Latinoamérica, el 4% de las muestras proviene de esta región, pero representamos el 8,4% de la población mundial lo que indica un importante faltante de datos provenientes de nuestra región. Además, la microbiota se ve afectada por las diferentes dietas, culturas y estilos de vida, por lo cual es fundamental obtener datos propios para determinar futuros biomarcadores personalizados a nuestra población, y proponer cambios en la alimentación que puedan modificar la composición microbiana y generar un impacto positivo en el control glucémico de los pacientes.

De acuerdo a lo descripto anteriormente, nuestra hipótesis de trabajo fue que los pacientes con DM1 del área metropolitana de Buenos Aires tendrán una composición microbiana diferente de acuerdo a su control glucémico y con respecto a los pacientes controles.

OBJETIVOS

El objetivo general fue caracterizar la composición microbiana a través del estudio de los *phyla* más abundantes en pacientes con DM1 de acuerdo con su control glucémico y en controles no diabéticos, sin obesidad, del área metropolitana de Buenos Aires. Además, determinar si existe relación entre la microbiota intestinal y el control glucémico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño

Estudio exploratorio transversal. Las muestras se tomaron entre diciembre de 2022 y diciembre de 2023. El estudio fue aprobado por el Comité de Revisión Institucional del Hospital Británico (código de registro: 6775). Todos los participantes firmaron el consentimiento informado.

Población

Se incluyeron voluntarios sin DM y con DM1 (se utilizó la definición de DM1 según criterios diagnósticos de la ADA³⁰), mayores de 18 años, residentes en el Área Metropolitana de Buenos Aires, seleccionados del Servicio de Endocrinología, Metabolismo, Nutrición y Diabetes del Hospital Británico de Buenos Aires. Se excluyeron los pacientes que hubieran recibido antibióticos en los últimos 6 meses o consumido probióticos en forma diaria durante los últimos 30 días previos a la toma de la muestra, aquellos que consumían fármacos inhibidores de la bomba de protones durante los últimos 6 meses, casos confirmados de enfermedad inflamatoria intestinal, en tratamiento oncológico actual (quimioterapia-radioterapia), con complicaciones agudas de la DM y/o pacientes con índice de masa corporal (IMC) ≥ 30 kg/m² (diagnóstico de obesidad)³¹.

Toma de muestras

Los pacientes recibieron un recipiente con una cucharita que contenía el *buffer* DESS (DMSO/EDTA/saturado en cloruro de sodio) que permite conservar las muestras a temperatura ambiente hasta por 24 semanas³². Luego, siguiendo las instrucciones del investigador principal y en su domicilio, el paciente tomó 5 g de materia fecal, los colocó en el recipiente y los homogeneizó en el *buffer*. La muestra fue entregada en la visita siguiente al Servicio. Las muestras biológicas se trasladaron al Instituto de Investigaciones Biomédicas UCA-CONICET bajo responsabilidad del per-

sonal especializado. Las misma se conservaron a -80°C hasta el momento en que se procesaron para realizar todos los estudios biológicos.

Variables

Se obtuvieron variables demográficas, datos de laboratorio y medidas antropométricas: peso (kg), talla (cm), IMC, hemoglobina HbA1c (%), glucemia (mg/dl). Estas dos últimas variables se midieron en el Servicio de Laboratorio del Hospital Británico por el método enzimático.

Purificación del ADN y PCR en tiempo real

Se extrajo el ADN de la materia fecal utilizando el *kit* ADN PuriPrep SUELO-kit (Inbio Highway) según las instrucciones del fabricante.

La composición microbiana se determinó por PCR en tiempo real utilizando *primers* específicos (Tabla 1) para el 16S de los *phyla* más abundantes de la microbiota (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y γ/δ *Proteobacteria*). La PCR en tiempo real se realizó en el equipo Quantstudio 1 (*Applied Biosystems*). Para cuantificar el número de copias por gen se usaron curvas estándar con plásmidos que llevaban el gen 16S rARN de cada uno de los *phyla* estudiados^{33,34}. Brevemente, se realizaron diluciones seriadas de 10²-10⁸ copias/μl de cada uno de estos plásmidos y se utilizaron en cada corrida para generar la curva estándar. Para calcular el número de copias/μl se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Número de copias } / \mu\text{l} = \frac{((X) \times [6,022 \times 10^{23} \text{ (copias/mol)}])}{(N) \times [1 \times 10^9 \text{ (ng/g)}] \times 660 \text{ (g/mol)}}$$

Donde: X = concentración dsADN (ng/μl); N = largo del templado dsADN (bp); 660 g/mol = masa promedio de 1 bp dsADN; 6,022 x 10²³ = constante de Avogadro; 1 x 10⁹ = factor de conversión a ng

Con cada corrida se realizó la curva estándar correspondiente (log copia/μl versus ct), se calculó la ecuación de la recta y se utilizó para hacer el cálculo del número de copias de cada gen de acuerdo a la cantidad de ADN en cada reacción. Para el cálculo de la abundancia relativa, se dividió la cantidad de copias/μg de cada gen 16s por la cantidad de copias/μg de bacteria total.

Estadística

Las variables continuas se informaron como media±SD o mediana y RIQ según su distribución, y las variables cualitativas como porcentaje de frecuencias. Se realizó un análisis univariado comparando los grupos control, DM con buen control y DM con mal control glucémico. Las diferencias entre los grupos se analizaron con el test de ANOVA no paramétrico de Kruskal Wallis seguido por el test *post hoc* de Conover. Se usaron los *software* INFOSTAT versión 2018 y GraphPad Prism 8.01.

Primer	Sentido	Antisentido
Bacteria total	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	ATTACCGCGGCTGCTGG
Bacteroidetes	GTTTAATTCGATGATACGCGAG	TTAAACCGACACCTCACGG
Firmicutes	GGAGYATGTGGTTAATTCGAAGCA	AGCTGACGACAACCATGCAC
Actinobacteria	GCGKCCATATCAGCTTGTT	CCGCCTACGAGCYCTTACGC
γ/δ -Proteobacteria	GCTAACGCATTAAGTRYCCCG	GCCATGCRGCACCTGTCT

Tabla 1: Secuencia de *primers* utilizados.

RESULTADOS

Características de la muestra

De los individuos invitados a participar, 57 firmaron el consentimiento informado. Sin embargo, 48 entregaron la muestra de materia fecal. De estos, tres muestras fueron descartadas ya que no se encontraban en condiciones (estaban sin el *buffer*).

De los 45 participantes, 23 eran controles y 22 pacientes con DM1. Dentro de este último grupo, 12 tenían DM1 con buen control glucémico definido por HbA1c <7,5% y 10 pacientes con DM1 con mal con-

trol glucémico considerando HbA1c ≥7,5 (Figura 1). Los datos demográficos, antropométricos y de laboratorio se detallan en la Tabla 2. Se observan las diferencias esperables en los niveles de glucemia y HbA1c.

Composición de la microbiota

A partir de las muestras de materia fecal, se extrajo el ADN, y se midieron por PCR en tiempo real los niveles de bacteria total, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* y γ/δ *Proteobacteria*. Con estos datos, se calcularon las abundancias relativas

que se encontraron dentro de los parámetros esperables, donde los *phyla* más abundantes fueron los *Bacteroidetes* y *Firmicutes* (Figura 2).

Al analizar detalladamente los resultados obtenidos, no se hallaron diferencias significativas en los niveles de bacteria total, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, γ/δ *Proteobacteria*, y la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* (Figura 3). Sin embargo, para los niveles de *Actinobacteria*, el grupo con DM con mal control glucémico presentó niveles mayores que el grupo control y que el grupo con DM con buen control glucémico.

Luego se analizó si había alguna correlación entre los niveles de los distintos *phyla* con los niveles de la HbA1c o glucemias solo en los pacientes con DM. Para ello, se realizaron correlaciones de Spearman (Tabla 3). Los resultados mostraron correlaciones significativas y positivas entre la HbA1c y los niveles de *Bacteroidetes* ($r=0,4655$; $p=0,029$), la HbA1c y los niveles de *Actinobacteria* ($r=0,4242$; $p=0,049$), y una correlación significativa y negativa entre la HbA1c y la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* ($r=0,4338$; $p=0,0437$) (Figura 4).

	Control (N=23)	HbA1c<7,5 (N=12)	HbA1c≥7,5 (N=10)
Edad (años)			
Mediana [Min; Max]	34,0 [18,0; 65,0]	50,5 [27,0; 68,0] ^a	45,0 [23,0; 58,0]
Sexo			
Femenino	16 (69,6%)	9 (75,0%)	7 (70,0%)
Masculino	7 (30,4%)	3 (25,0%)	3 (30,0%)
Peso (kg)			
Mediana [Min; Max]	60,0 [18,0; 102,8]	66,8 [54,7; 76,0]	66,4 [58,5; 80,5]
Talla (cm)			
Mediana [Min; Max]	163,0 [150,0; 193,0]	162,5 [151,0; 185,0]	164,0 [155,0; 175,0]
IMC (kg/m²)			
Mediana [Min; Max]	23,4 [19,4; 29,7]	24,8 [20,8; 29,2]	25,4 [22,0; 27,3]
Glucemia (mg/dl)			
Mediana [Min; Max]	90,0 [79,0; 99,0]	121 [60,0; 268,0] ^a	186,5 [74,0; 275,0] ^b
HbA1c (%)			
Mediana [Min; Max]	4,95 [4,5; 5,30]	6,90 [5,20; 7,40] ^b	8,55 [7,50; 10,7] ^{b,c}

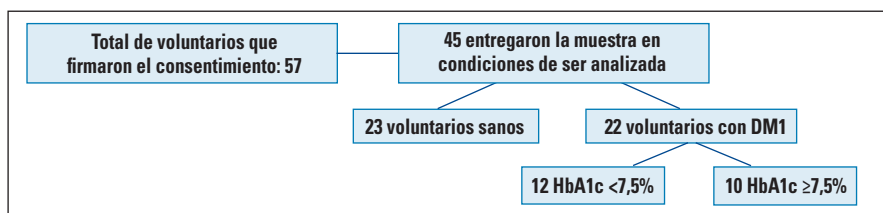
^a $p<0,05$ respecto del control; ^b $p<0,001$ respecto del control; ^c $p<0,05$ respecto de la HbA1c<7,5.
IMC: índice de masa corporal.

Tabla 2: Datos demográficos, bioquímicos y antropométricos.

	Hba1C	Glucemia
Log (bacteria total 16s/μg DNA)	$r = 0,1273$ $p = 0,5725$	$r = -0,0779$ $p = 0,7302$
Log (<i>Bacteroidetes</i> 16s/μg DNA)	$r = 0,4625$ $p = 0,0290^*$	$r = 0,2096$ $p = 0,3492$
Log (<i>Firmicutes</i> 16s/μg DNA)	$r = 0,0605$ $p = 0,7891$	$r = -0,0259$ $p = 0,9086$
Log (<i>Proteobacteria</i> 16s/μg DNA)	$r = 0,1188$ $p = 0,5986$	$r = -0,4508$ $p = 0,0352^*$
Log (<i>Actinobacteria</i> 16s/μg DNA)	$r = 0,4242$ $p = 0,0490^*$	$r = 0,0124$ $p = 0,9562$
<i>Firmicutes/Bacteroidetes</i>	$r = -0,4338$ $p = 0,0437^*$	$r = -0,3164$ $p = 0,1514$

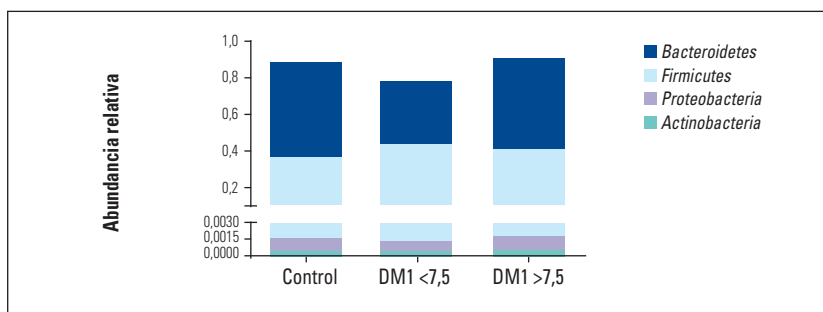
* $p<0,05$

Tabla 3: Resultados del análisis de correlación entre los distintos *phyla*, y la Hba1C y la glucemia.



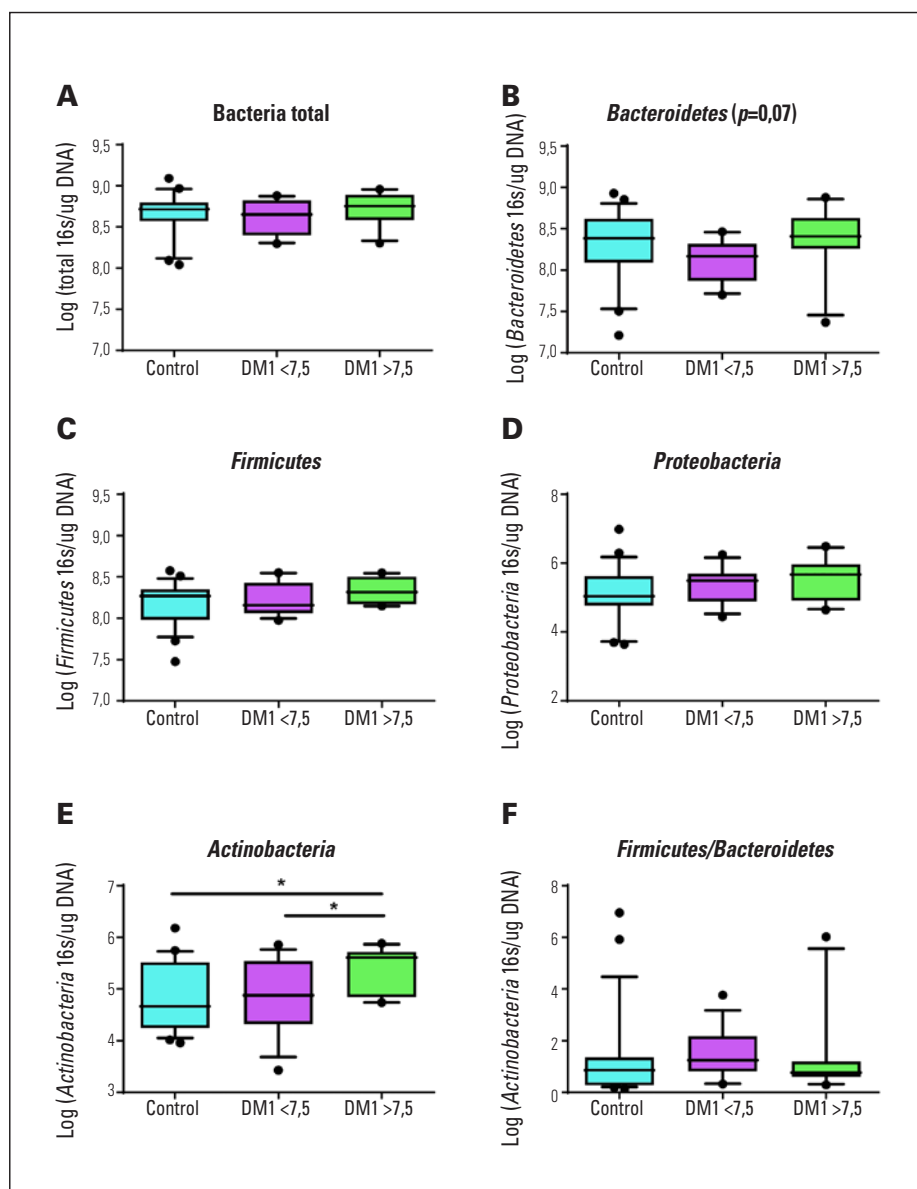
DM1: diabetes mellitus tipo 1.

Figura 1: Características de la muestra.



DM1: diabetes mellitus tipo 1.

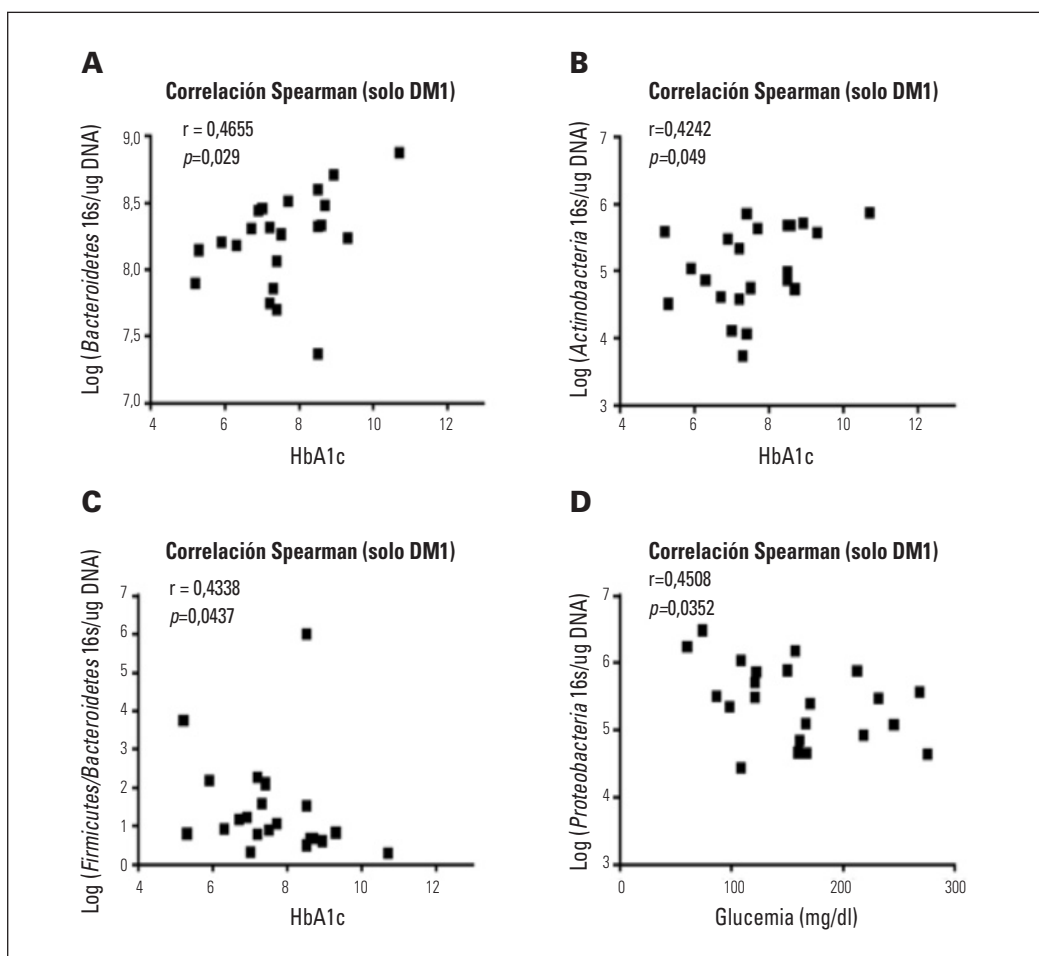
Figura 2: Abundancia relativa para cada *phylum* en cada uno de los grupos estudiados.



* $p < 0,05$. DM1: diabetes mellitus tipo 1.

Se obtuvieron las muestras de materia fecal y el ADN se purificó. La PCR en tiempo real se realizó con primers específicos para 16S (panel A), 16S Bacteroidetes (panel B), 16S Firmicutes (panel C), 16S y Proteobacteria (panel D) y 16S Actinobacteria (panel E). Se calculó la relación entre Firmicutes y Bacteroidetes (panel F). Las cajas representan los cuartiles, la línea central es la mediana y los bigotes son el percentilo 10 y 90.

Figura 3: Niveles de los principales *phyla* de la microbiota.



DM1: diabetes mellitus tipo 1.

Correlación entre la HbA1c y los niveles de Bacteroidetes (panel A), correlación entre la HbA1c y los niveles de Actinobacteria (panel B), correlación entre la HbA1c y la relación entre Firmicutes y Bacteroidetes (panel C), correlación entre la glucemia y los niveles de $\gamma\delta$ Proteobacteria (panel D).

Figura 4: Correlación de Spearman entre la HbA1c y los *phyla* más abundantes de la microbiota en pacientes con diabetes mellitus tipo 1.

DISCUSIÓN

En los últimos años tomaron amplia relevancia los estudios sobre la microbiota intestinal asociados a distintas patologías. De esta manera, el objetivo de nuestro trabajo fue caracterizar la composición microbiana a través del estudio de los *phyla* más abundantes en pacientes con DM1 de acuerdo con su control glucémico y en controles no diabéticos, sin obesidad, del área metropolitana de Buenos Aires. Consideramos como valor de corte para buen control glucémico, un valor de HbA1c menor de 7,5%, ya que fue el mejor valor obtenido sin presentar hipoglucemias en nuestros pacientes.

La microbiota intestinal está compuesta por microorganismos comensales, simbióticos y parásitos. Los *phyla* más abundantes son *Bacteroidetes* y *Firmicutes* (juntos constituyen más del 90% de la microbiota intestinal), seguidos por

Actinobacteria y *Proteobacteria*³⁵. *Bacteroidetes* está representada en su mayoría por bacterias del género *Bacteroides*, *Parabacteroides* y *Prevotella*. En general, se considera que los *Bacteroides* son microbios simbioses beneficiosos que promueven un desarrollo inmune normal, pero a su vez pueden ser patógenos oportunistas^{36,37}. Asimismo, podrían contribuir a la inflamación crónica por un aumento en la permeabilidad intestinal³⁸. En el caso de *Prevotella*, algunas especies han sido capaces de inducir respuestas Th17 y estimular la secreción de citoquinas proinflamatorias, conduciendo a la diseminación sistémica de mediadores inflamatorios, bacterias y productos bacterianos³⁹. En el *phylum* *Firmicutes* se incluyen *Clostridium*, *Faecalibacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Eubacterium* y *Ruminococcus*, entre otros. Son bacterias que produce butira-

to, un ácido graso de cadena corta utilizado por el epitelio intestinal como sustrato energético para mantener su integridad y función, con efectos antiinflamatorios sobre el epitelio intestinal y regulando la diferenciación de células Tregs⁴⁰. El *phylum Actinobacteria* representa menos del 10% de la microbiota intestinal total, y sus géneros destacados son *Bifidobacterium* y *Collinsella*. Bacterias del género *Bifidobacterium* contribuyen a la homeostasis intestinal a través de la producción de acetato y lactato durante la fermentación de los hidratos de carbono. Estos, a su vez, pueden ser convertidos en butirato por otras bacterias a través de interacciones de alimentación cruzada (transferencia de nutrientes entre microorganismos)^{41,42}. Asimismo, algunas especies de *Bifidobacterium* son consideradas bacterias probióticas que promueven un beneficio al hospedador. Por otro lado, algunas especies del género *Collinsella* contribuyen al desarrollo de un perfil proinflamatorio y su abundancia esta elevada en patologías como DM, obesidad, artritis reumatoide y enfermedad por hígado graso⁴³⁻⁴⁶. En ensayos *in vitro*, aumentó la expresión de IL-17a, ROR α , las quemoquinas CXCL1 y CXCL5, y de NFkB1, sugiriendo la activación de vías inflamatorias⁴⁷. Asimismo, se encontró una reducción en las proteínas de la unión estrecha (ZO-1 y *Occludina*), aumentando la permeabilidad⁴⁷. El *phylum Proteobacteria* constituye menos del 2% de la abundancia total, *Helicobacter* y *Escherichia* son los géneros principales. Muchos de sus miembros son patógenos. Asimismo, son bacterias Gram negativas por lo que presentan en su membrana externa lipopolisacárido, un potente agente inflamatorio. Pueden ser reconocidos por el sistema inmune del hospedador como inmunogénicos, sin embargo algunos miembros pueden inducir tolerancia^{48,49}.

Numerosos trabajos documentaron las modificaciones en la microbiota durante la patogénesis de la DM1^{20,50}. Estos, en su mayoría, se realizaron en individuos recientemente diagnosticados o, como en el caso del estudio *The Environmental Determinants of Diabetes in the Young* (TEDDY) y el *All Babies In Southeast Sweden* (ABIS), en individuos susceptibles, encontrando alteraciones en la microbiota incluso previo al desarrollo de la enfermedad^{51,52}. Estas alteraciones en general incluían disminución en la diversidad y el aumento de *Bacteroidetes*. Sin embargo, en otros casos, los resultados fueron contradictorios. Asimismo, existen algunos estudios en pacientes adultos, con la

patología ya establecida⁵³, donde encontraron una relación entre la microbiota y el control glucémico. Nuestros resultados mostraron un aumento significativo en los niveles *Actinobacteria* en los pacientes con DM1 con mal control glucémico. Resultados similares encontraron Mrozinska et al. en un estudio de Polonia donde se observó un aumento de *Bacteroidetes* y *Actinobacteria* en individuos con mal control glucémico²¹. En este sentido, Gu et al., en una cohorte proveniente de China, detectaron una abundancia relativa mayor de *Actinobacteria* en el grupo con mal control glucémico⁵⁴. Asimismo, Higuruchi et al., en un estudio realizado en Brasil, observaron una correlación positiva y significativa entre los niveles de HbA1c y *Bacteroidetes*²², del mismo modo que nuestros resultados y que lo encontrado en una revisión sistemática²⁴. En un trabajo en niños con DM1, los autores hallaron una correlación negativa entre la HbA1c y la relación *Firmicutes/Bacteroidetes*⁵⁵, de forma similar a nuestros resultados. Por otro lado, de Groot et al. no identificaron asociaciones con ninguna taxa⁵⁶. En la gran mayoría de los estudios, encontramos asociaciones similares a las obtenidas en nuestra población, sugiriendo que se podría determinar una firma de la microbiota intestinal que se repite a pesar de tratarse de diferentes poblaciones, permitiendo determinar una "firma" de la microbiota intestinal.

Otros trabajos hallaron asociaciones entre la HbA1c y determinadas familias, géneros o especies, como el caso de *Ruminococcaceae* (*Firmicutes*) o del género *Faecalibacterium* (*Firmicutes* inversamente relacionados)^{57,58}, *Akkermansia muciniphila* (*Verrucomicrobiota* inversamente relacionados)⁵⁹, las especies SGB592 y SGB1340 de la familia *Prevotellaceae* (*Bacteroidetes* inversamente relacionados)⁶⁰ y *Dorea formicigenerans* (*Firmicutes* inversamente relacionados)⁵⁸. En nuestro caso, no estudiamos en estos niveles de clasificación; para esto sería necesario realizar un análisis metagenómico de la microbiota. Si bien tiene un costo más elevado, permitiría determinar la composición de la microbiota incluyendo niveles más bajos de clasificación (género y especie), favoreciendo un estudio más completo e integral.

A partir de nuestros resultados o de los trabajos publicados no es posible determinar la relación causal entre la HbA1c y/o el control glucémico y la composición microbiana. Se podría especular que el aumento en la glucemia favorece determinados tipos bacterianos ya sea por el metabolismo de las bacterias o por cambios en las vías metabólicas.

Sin embargo, también podría ocurrir que el cambio en la composición microbiana afecte el control metabólico en los pacientes. No obstante, y en términos de relevancia clínica, la identificación de las asociaciones entre el control glucémico y los microorganismos presentes en las distintas poblaciones demuestra el potencial de las terapias basadas en la manipulación de la microbiota o la utilización del estudio de la microbiota como biomarcador para predecir el estado del control glucémico para identificar individuos en riesgo.

Si bien se han publicados numerosos trabajos utilizando probióticos o realizando trasplante de materia fecal, los resultados han sido contradictorios^{25-28,61-63}. Por este motivo, los estudios futuros deberán realizarse con un gran número de participantes y deberán, asimismo, elucidar los mecanismos asociados.

Este estudio presenta limitaciones. Por empezar, nuestro tamaño muestral fue pequeño. Por otro lado, solo medimos los *phyla* más abundantes de la microbiota, lo que no nos permitió evaluar a niveles más bajos de clasificación. A pesar de esto, pudimos detectar diferencias entre los grupos estudiados y evaluar asociaciones. Asimismo, si bien hubo diferencias en la edad, esta fue entre el grupo control frente al grupo con DM con buen control glucémico. En nuestros resultados, las diferencias y las asociaciones encontradas fueron entre los grupos con DM.

Según nuestro conocimiento, este es el primer trabajo realizado en la Argentina que estudió la composición microbiana a nivel de los *phyla* en pacientes con DM1 sin obesidad. La gran mayoría de estos estudios proviene de países industrializados, por lo que es importante completar la brecha de conocimiento con datos propios.

CONCLUSIONES

Se puede concluir que existen cambios en la microbiota entre individuos controles y pacientes con DM1. Asimismo, se pudieron establecer relaciones entre la microbiota y la HbA1c. Si bien se necesitan más estudios, los presentes resultados podrían sentar las bases para la manipulación de la microbiota como complemento en el control glucémico.

Financiamiento

El presente trabajo contó con el apoyo de la Sociedad Argentina de Diabetes (Subsidio SAD 2022, Área de Investigación Clínica) y de la Beca SALUD INVESTIGA 2022-2023, otorgada por Ministerio de Salud de la Nación a través de la Dirección de Investigación en Salud.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gregory GA, Robinson TIG, Linklater SE, et al. Global incidence, prevalence, and mortality of type 1 diabetes in 2021 with projection to 2040: a modelling study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2022;10(10):741-760. doi:10.1016/S2213-8587(22)00218-2
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 9th ed. (Williams R, Colagiuri S, Almutairi R, et al., eds.). International Diabetes Federation; 2019.
3. American Diabetes Association. Professional Practice Committee. 6. Glycemic goals and hypoglycemia. *Standards of Care in Diabetes-2024*. *Diabetes Care*. 2024;47(Suppl 1):S111-S125. doi:10.2337/dc24-S006.
4. Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* 2006;124(4):837-848. doi:10.1016/j.cell.2006.02.017.
5. Ley RE, Lozupone CA, Hamady M, Knight R, Gordon JI. Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota. *Nat Rev Microbiol* 2008;6(10):776-788. doi:10.1038/nrmicro1978.
6. Maslowski KM, Mackay CR. Diet, gut microbiota and immune responses. *Nat Immunol* 2011;12(1):5-9. doi:10.1038/ni0111-5.
7. Durack J, Lynch SV. The gut microbiome: relationships with disease and opportunities for therapy. *J Exp Med* 2019;216(1):20-40. doi:10.1084/jem.20180448.
8. Yao Y, Cai X, Ye Y, Wang F, Chen F, Zheng C. The role of microbiota in infant health: from early life to adulthood. *Front Immunol* 2021;12:708472. doi:10.3389/fimmu.2021.708472.
9. Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 2012;489(7415):242-249. doi:10.1038/nature11552.
10. Robles-Alonso V, Guarner F. Linking the gut microbiota to human health. *Br J Nutr* 2013;109 Suppl 2:S21-6. doi:10.1017/S0007114512005235.
11. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar Reddy D. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol* 2015;21(29):8787-8803. doi:10.3748/wjg.v21.i29.8787.
12. Molinaro F, Paschetta E, Cassader M, Gambino R, Musso G. Probiotics, prebiotics, energy balance, and obesity: mechanistic insights and therapeutic implications. *Gastroenterol Clin North Am* 2012;41(4):843-854. doi:10.1016/j.gtc.2012.08.009.
13. Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol* 2016;14(1):20-32. doi:10.1038/nrmicro3552.
14. Knip M, Siljander H. The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2016;12(3):154-167. doi:10.1038/nrendo.2015.218.
15. Paun A, Yau C, Danska JS. The influence of the microbiome on type 1 diabetes. *J Immunol* 2017;198(2):590-595. doi:10.4049/jimmunol.1601519.
16. Brown CT, Davis-Richardson AG, Giongo A, et al. Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PLoS One* 2011;6(10):e25792. doi:10.1371/journal.pone.0025792.
17. de Goffau MC, Luopajarvi K, Knip M, et al. Fecal microbiota composition differs between children with β -cell autoimmunity and those without. *Diabetes* 2013;62(4):1238-1244. doi:10.2337/db12-0526.
18. Jamshidi P, Hasanzadeh S, Tahvildari A, et al. Is there any association between gut microbiota and type 1 diabetes? A systematic review. *Gut Pathog* 2019;11:49. doi:10.1186/s13099-019-0332-7.
19. Ma Q, Li Y, Wang J, et al. Investigation of gut microbiome changes in type 1 diabetic mellitus rats based on high-throughput sequencing. *Biomed Pharmacother* 2020;124:109873. doi:10.1016/j.biopha.2020.109873.

20. Zhou H, Sun L, Zhang S, Zhao X, Gang X, Wang G. Evaluating the causal role of gut microbiota in type 1 diabetes and its possible pathogenic mechanisms. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020;11:125. doi:10.3389/fendo.2020.00125.
21. Mrozinska S, Kapusta P, Gosiewski T, et al. The gut microbiota profile according to glycemic control in type 1 diabetes patients treated with personal insulin pumps. *Microorganisms* 2021;9(1). doi:10.3390/microorganisms9010155.
22. Higuchi BS, Rodrigues N, Gonzaga MI, et al. Intestinal dysbiosis in autoimmune diabetes is correlated with poor glycemic control and increased interleukin-6. A pilot study. *Front Immunol* 2018;9:1689. doi:10.3389/fimmu.2018.01689.
23. Xie Y-C, Jing X-B, Chen X, Chen L-Z, Zhang S-H, Cai X-B. Fecal microbiota transplantation treatment for type 1 diabetes mellitus with malnutrition: a case report. *Ther Adv Chronic Dis* 2022;13:20406223221117449. doi:10.1177/20406223221117449.
24. Moreira LAA, da Paz Lima L, Aparecida de Oliveira Falcão M, Rosado EL. Profile of gut microbiota of adults with diabetes mellitus type 1. A systematic review. *Curr Diabetes Rev* 2022. doi:10.2174/1573399818666220328150044.
25. Wang C-H, Yen H-R, Lu W-L, et al. Adjuvant probiotics of *Lactobacillus salivarius* subsp. *salicinius* AP-32, *L. johnsonii* MH-68, and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* CP-9 attenuate glycemic levels and inflammatory cytokines in patients with type 1 diabetes mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022;13:754401. doi:10.3389/fendo.2022.754401.
26. Zare Javid A, Aminzadeh M, Haghighi-Zadeh MH, Jamalvandi M. The effects of synbiotic supplementation on glycemic status, lipid profile, and biomarkers of oxidative stress in type 1 diabetic patients. A placebo-controlled, double-blind, randomized clinical trial. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2020;13:607-617. doi:10.2147/DMSO.S238867.
27. Shabani-Mirzaee H, Haghsheenas Z, Malekiantaghi A, Vigh M, Mahdavi F, Eftekhari K. The effect of oral probiotics on glyated haemoglobin levels in children with type 1 diabetes mellitus. A randomized clinical trial. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab* 2023;29(3):128-133. doi:10.5114/pedm.2023.132025.
28. Groele L, Szajewska H, Szalecki M, et al. Lack of effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium lactis* Bb12 on beta-cell function in children with newly diagnosed type 1 diabetes: a randomised controlled trial. *BMJ Open Diabetes Res Care* 2021;9(1). doi:10.1136/bmjdr-2020-001523.
29. Abdill RJ, Adamowicz EM, Blekman R. Public human microbiome data are dominated by highly developed countries. *PLoS Biol* 2022;20(2):e3001536. doi:10.1371/journal.pbio.3001536.
30. American Diabetes Association Professional Practice Committee. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2022. *Diabetes Care* 2022;45(Suppl 1):S17-S38. doi:10.2337/dc22-S002.
31. Pischon T. Use of obesity biomarkers in cardiovascular epidemiology. *Dis Markers* 2009;26(5-6):247-263. doi:10.3233/DMA-2009-0634.
32. Gray MA, Pratte ZA, Kellogg CA. Comparison of DNA preservation methods for environmental bacterial community samples. *FEMS Microbiol Ecol* 2013;83(2):468-477. doi:10.1111/1574-6941.12008.
33. Rubinstein MR, Wang X, Liu W, Hao Y, Cai G, Han YW. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe*. 2013;14(2):195-206. doi:10.1016/j.chom.2013.07.012.
34. Gokduman K, Avsaroglu MD, Cakiris A, Ustek D, Gurakan GC. Recombinant plasmid-based quantitative Real-Time PCR analysis of *Salmonella enterica* serotypes and its application to milk samples. *J Microbiol Methods* 2016;122:50-58. doi:10.1016/j.mimet.2016.01.008.
35. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473(7346):174-180. doi:10.1038/nature09944.
36. Bornet E, Westermann AJ. The ambivalent role of *Bacteroides* in enteric infections. *Trends Microbiol* 2022;30(2):104-108. doi:10.1016/j.tim.2021.11.009.
37. Wexler AG, Goodman AL. An insider's perspective: *Bacteroides* as a window into the microbiome. *Nat Microbiol* 2017;2:17026. doi:10.1038/nmicrobiol.2017.26.
38. Tlaskalová-Hogenová H, Stepánková R, Kozáková H, et al. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol Immunol* 2011;8(2):110-120. doi:10.1038/cmi.2010.67.
39. Larsen JM. The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease. *Immunology*. 2017;151(4):363-374. doi:10.1111/imm.12760.
40. Singh V, Lee G, Son H, et al. Butyrate producers, "The Sentinel of Gut": Their intestinal significance with and beyond butyrate, and prospective use as microbial therapeutics. *Front Microbiol* 2022;13:1103836. doi:10.3389/fmicb.2022.1103836.
41. Rivière A, Selak M, Lantini D, Leroy F, De Vuyst L. *Bifidobacteria* and Butyrate-producing colon bacteria. Importance and strategies for their stimulation in the human gut. *Front Microbiol* 2016;7:979. doi:10.3389/fmicb.2016.00979.
42. Binda C, Lopetuso LR, Rizzatti G, Gibiino G, Cennamo V, Gasbarrini A. Actinobacteria: a relevant minority for the maintenance of gut homeostasis. *Dig Liver Dis* 2018;50(5):421-428. doi:10.1016/j.dld.2018.02.012.
43. Astbury S, Atallah E, Vijay A, Aithal GP, Grove JI, Valdes AM. Lower gut microbiome diversity and higher abundance of proinflammatory genus *Collinsella* are associated with biopsy-proven nonalcoholic steatohepatitis. *Gut Microbes* 2020;11(3):569-580. doi:10.1080/19490976.2019.1681861.
44. Ruiz-Limón P, Mena-Vázquez N, Moreno-Indias I, et al. *Collinsella* is associated with cumulative inflammatory burden in an established rheumatoid arthritis cohort. *Biomed Pharmacother* 2022;153:113518. doi:10.1016/j.biopha.2022.113518.
45. Frost F, Storck LJ, Kacprowski T, et al. A structured weight loss program increases gut microbiota phylogenetic diversity and reduces levels of *Collinsella* in obese type 2 diabetics: a pilot study. *PLoS One* 2019;14(7):e0219489. doi:10.1371/journal.pone.0219489.
46. Lambeth SM, Carson T, Lowe J, et al. Composition, diversity and abundance of gut microbiome in prediabetes and type 2 diabetes. *J Diabetes Obes* 2015;2(3):1-7. doi:10.15436/2376-0949.15.031.
47. Chen J, Wright K, Davis JM, et al. An expansion of rare lineage intestinal microbes characterizes rheumatoid arthritis. *Genome Med* 2016;8(1):43. doi:10.1186/s13073-016-0299-7.
48. Rizzatti G, Lopetuso LR, Gibiino G, Binda C, Gasbarrini A. *Proteobacteria*: a common factor in human diseases. *Biomed Res Int* 2017;2017:9351507. doi:10.1155/2017/9351507.
49. Cohen I, RuffWE, Longbrake EE. Influence of immunomodulatory drugs on the gut microbiota. *Immunomodulatory drugs and the gut microbiota*. *Transl Res* 2021. doi:10.1016/j.trsl.2021.01.009.
50. Dedrick S, Sundaresh B, Huang Q, et al. The role of gut microbiota and environmental factors in type 1 diabetes pathogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020;11:78. doi:10.3389/fendo.2020.00078.
51. Kostic AD, Gevers D, Siljander H, et al. The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. *Cell Host Microbe* 2015;17(2):260-273. doi:10.1016/j.chom.2015.01.001.
52. B ltek y M, Millettich PL, Ahrens AP, Triplett EW, Ludvigsson J. Infant gut microbiome composition correlated with type 1 diabetes acquisition in the general population: the ABIS study. *Diabetologia* 2023;66(6):1116-1128. doi:10.1007/s00125-023-05895-7.
53. Abuqwidar J, Corrado A, Scid  G, et al. Gut microbiome and blood glucose control in type 1 diabetes: a systematic review. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2023;14:1265696. doi:10.3389/fendo.2023.1265696.

54. Gu Z, Pan L, Tan H, et al. Gut microbiota, serum metabolites, and lipids related to blood glucose control and type 1 diabetes. *J Diabetes* 2024;16(10):e70021. doi:10.1111/1753-0407.70021.
55. Leiva-Gea I, Sánchez-Alcoholado L, Martín-Tejedor B, et al. Gut microbiota differs in composition and functionality between children with type 1 diabetes and MODY2 and healthy control subjects. A case-control study. *Diabetes Care* 2018;41(11):2385-2395. doi:10.2337/dc18-0253.
56. de Groot PF, Belzer C, Aydin Ö, et al. Distinct fecal and oral microbiota composition in human type 1 diabetes, an observational study. *PLoS One* 2017;12(12):e0188475. doi:10.1371/journal.pone.0188475.
57. Huang Y, Li S-C, Hu J, et al. Gut microbiota profiling in Han Chinese with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2018;141:256-263. doi:10.1016/j.diabres.2018.04.032.
58. van Heck JIP, Gacesa R, Stienstra R, et al. The gut microbiome composition is altered in long-standing type 1 diabetes and associates with glycemic control and disease-related complications. *Diabetes Care* June 2022. doi:10.2337/dc21-2225.
59. Fassatoui M, Lopez-Siles M, Díaz-Rizzolo DA, et al. Gut microbiota imbalances in Tunisian participants with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Biosci Rep* 2019;39(6). doi:10.1042/BSR20182348.
60. Shilo S, Godneva A, Rachmiel M, et al. The gut microbiome of adults with type 1 diabetes and its association with the host glycemic control. *Diabetes Care* 2022;45(3):555-563. doi:10.2337/dc21-1656.
61. Koneru HM, Sarwar H, Bandi VV, et al. A systematic review of gut microbiota diversity. A key player in the management and prevention of diabetes mellitus. *Cureus* 2024;16(9):e69687. doi:10.7759/cureus.69687.
62. de Groot P, Nikolic T, Pellegrini S, et al. Faecal microbiota transplantation halts progression of human new-onset type 1 diabetes in a randomised controlled trial. *Gut* 2021;70(1):92-105. doi:10.1136/gutjnl-2020-322630.
63. Zhang S, Deng F, Chen J, et al. Fecal microbiota transplantation treatment of autoimmune-mediated type 1 diabetes. A systematic review. *Front Cell Infect Microbiol* 2022;12:1075201. doi:10.3389/fcimb.2022.1075201.