

## Desarrollo de la microbiota gastrointestinal en lactantes y su rol en salud y enfermedad

Carolina A. Serrano <sup>1</sup>, Miguel León <sup>1</sup>, Paul R. Harris <sup>1\*</sup>

**Resumen** - Durante la última década, con la aparición de técnicas de secuenciación de última generación basadas en la filogenia del gen ARN ribosomal 16S y complejas plataformas bioinformáticas, la composición del microbioma y su rol en salud y enfermedad ha sido sujeto de investigación activa. Existe una evidencia creciente que relaciona la disbiosis microbiana y un aumento del riesgo de desarrollar enfermedades de tipo inflamatorio, autoinmune, y metabólico tales como asma, diabetes, obesidad y enfermedades gastrointestinales crónicas. El ensamblaje de la microbiota intestinal en los humanos comienza antes y durante el proceso de parto y evoluciona con la alimentación durante la infancia y debe ser entendido en profunda relación con el microbioma de su madre. La comprensión del impacto de la microbiota en la morbilidad en seres humanos necesariamente requiere de una etapa previa como es el conocimiento del desarrollo y ensamblaje precoz de la microbiota en recién nacidos, y como las intervenciones médicas como la elección en la ruta de parto (parto cesárea *versus* parto vaginal), uso precoz de antibióticos, selección de fórmula láctea (lactancia materna *versus* fórmulas artificiales), entre otros, pueden modificar en forma sustancial su conformación y a través de cambios en el desarrollo del sistema inmune, ejercer un impacto en salud y enfermedad en neonatos, lactantes y posteriormente a lo largo de la vida de un ser humano.

**Palabras clave:** microbioma; microbiota; disbiosis.

**Abstract-** In the last years, with the development of massive last generation sequencing techniques based on the phylogeny of 16S rRNA gene and complex bioinformatics platforms, the composition of the human microbiome and its role in health and disease has been an active subject of research. There is growing evidence that associate the intestinal disbiosis with an increase risk to develop chronic inflammatory, autoimmune, and metabolic diseases such as asthma, diabetes, obesity and chronic gastrointestinal conditions. The assembly of the intestinal microbiome in human begins before and during the birth process, progressing with the feeding during infancy and it must be understood in a close relationship with the microbiome of their mothers. The comprehension of the impact of microbiome in human morbidity will require of a previous stage, the knowledge of the development and early assembly of the microbiome in newborns, and to understand how early medical intervention such as delivery route (C-section *versus* vaginal delivery), early use and abuse of antibiotics, selection of formula patterns (human milk *versus* formula bottle milk) among others, may substantially modify the microbiome conformation and to have a profound impact in the development of the immune system, affecting later in life the development of disease in neonates, infants and adults.

**Keywords:** *microbiome; microbiota; disbiosis.*

Fecha de envío: 27 de enero de 2016 - Fecha de aceptación: 18 de abril de 2016

### Abreviaciones usadas en el texto

ARN: Ácido ribonucleico; OTU: Unidad taxonómica operacional;  
Ig: Inmunoglobulina; EEI: Enfermedad inflamatoria intestinal;

CU: Colitis ulcerosa; CD: Enfermedad de Crohn; NOD: Nucleotide binding oligomerization domain; IL: Interleuquina; TNF: Factor de necrosis tumoral; DM: Diabetes mellitus.

(1) Departamento de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile; Cód. Postal 8330024

\*Autor de Correspondencia: [pharris@med.puc.cl](mailto:pharris@med.puc.cl)



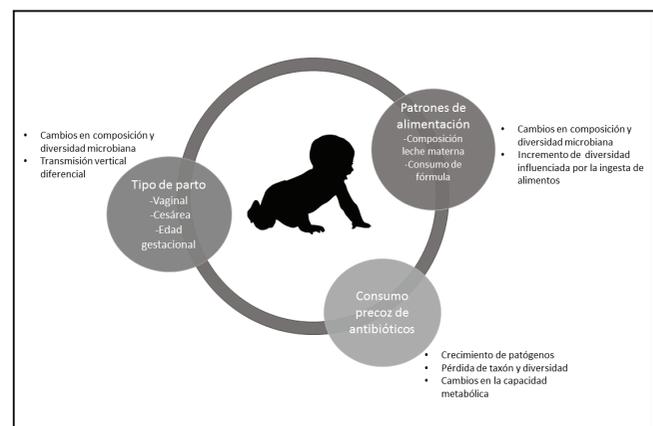
## 1. El microbioma humano

Durante la última década, el estudio de la microbiota humana ha llamado la atención de diversas disciplinas científicas. La microbiota se refiere a agregados microbianos que ocupan un nicho especial en superficies de mucosa y piel a lo largo del cuerpo humano, abarcando alrededor de  $10^{14}$  células microbianas (10 veces más que las células del cuerpo humano), y sobre 3,3 millones de genes únicos (150 veces el genoma humano) (Cho & Blaser 2012). El genoma colectivo de la microbiota es conocido como microbioma. Históricamente, la dinámica ecológica de las bacterias comensales humanas ha sido un campo de difícil estudio, principalmente debido a las dificultades técnicas asociadas con la naturaleza no cultivable de la mayoría de estas bacterias. Con el avance tecnológico que llevó a la aparición de técnicas de secuenciación de última generación, que emplean, entre otros, la filogenia del gen ARN ribosomal 16S además de complejas plataformas bioinformáticas, la composición del microbioma y su rol en salud y enfermedad ha sido sujeto de investigación activa durante los últimos años. El proyecto Microbioma Humano, finalizado el año 2012, estableció un punto de partida para evaluar el rol del microbioma en la salud y enfermedad describiendo la composición del microbioma en diversos sitios del cuerpo en adultos sanos provenientes de EE. UU. (Turnbaugh et al. 2007). Existe además, una evidencia sostenida obtenida a partir de estudios clínicos, epidemiológicos y en animales que exploran asociaciones entre la disbiosis microbiana y el desarrollo de enfermedades. Dicha disbiosis correlaciona de manera positiva con un aumento del riesgo de desarrollar enfermedades de tipo inflamatorio, autoinmune, y metabólico tales como asma, diabetes, obesidad y enfermedades gastrointestinales crónicas (colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, cáncer gástrico, cáncer colorrectal, enfermedad celiaca) (Cho & Blaser 2012).

El ensamblaje de la microbiota intestinal comienza antes y durante el proceso de parto y evoluciona con la alimentación durante la infancia. El microbioma de un recién nacido no puede ser comprendido completamente en función del individuo aislado, sino en profunda relación con el microbioma de su madre. La variación en la composición de la microbiota intestinal humana es atribuida frecuentemente a tasas crecientes de partos por cesárea, el uso de antibióticos y alimentación en base a fórmulas lácteas, entre otros (Cho & Blaser 2012). Más aún, nuestro concepto dogmático sobre nichos estériles en el cuerpo humano (por ej., placenta) se ve desafiado actualmente por la reciente evidencia acerca de cómo estos nichos podrían funcionar como repositorio de una biomasa activa que alberga un microbioma único (Prince et al. 2015).

## 2. Factores que influyen el desarrollo de la microbiota intestinal en recién nacidos

El feto permanece esencialmente estéril hasta la ruptura del saco amniótico. La microbiota oral, intestinal, vaginal y del tracto urinario materno contribuye a la siembra inicial de la microbiota neonatal. Con el paso a través del canal de parto, los recién nacidos son inoculados al nacer (transmisión vertical) y en conjunción con un número variable de exposiciones posteriores (transmisión horizontal) se establecerá la composición de su microbiota inicial, que evolucionará en el tiempo, siendo entre los 2 y 3 años indistinguible de una microbiota adulta (Yatsunenکو et al. 2012). En la evolución de los mamíferos, los cambios o pérdidas potenciales en la transmisión vertical de la microbiota desde la madre a su descendencia podrían ser compensados a través de la transmisión horizontal (agua potable contaminada con heces, elevado contacto físico, conglomeración social y familias numerosas). Sin embargo, la pérdida progresiva de la microbiota transmitida verticalmente en ausencia de reemplazo horizontal representa un fenómeno acumulativo de cohorte de nacimiento. Los eventos que promueven una disminución en la diversidad y riqueza de la microbiota han sido asociados clásicamente con riesgo de enfermedad. Por lo que es crucial comprender cómo la práctica médica moderna y el estilo de vida occidental afectan el desarrollo y la diversidad de la microbiota. Al menos 3 factores claves han sido identificados: tasas de cesárea, uso de antibióticos, y patrones de alimentación (Dominguez-Bello et al. 2010).



**Figura 1. Factores que influyen sobre el desarrollo de la microbiota en niños**

**i. Partos por cesárea.** Durante la última década, las tasas de partos por cesárea se han incrementado a nivel mundial con proporciones sobre un 30% en EE. UU. y acercándose al 40% en Chile (Health at a Glance: OECD Indicators, 2013). A medida que los neonatos pasan a través del canal de parto materno, adquieren bacterias ácido-lácticas desde la microbiota vaginal materna, específicamente *Lactobacillus*, *Prevotella*, y *Sneathia spp.* A pesar de que solo algunos microbios colonizarán de forma permanente al lactante, la exposición inicial es fundamental para el desarrollo apropiado del ecosistema de la microbiota adulta (Domínguez-Bello *et al.* 2010). Por el contrario, las comunidades bacterianas precursoras en bebés nacidos por cesárea son similares a la flora de la piel materna, tales como *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium spp.* Más aún, un estudio en Italia describió una mayor diversidad en la microbiota intestinal de bebés nacidos por vía vaginal en comparación a bebés nacidos por cesárea, con ausencia de *Bifidobacterium* en estos últimos (Biasucci *et al.* 2008). Estudios de transmisión vertical del probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG, ingerido por la madre durante el embarazo, señalaron que el probiótico fue transmitido en distinta proporción a lactantes nacidos por vía vaginal (100%) o cesárea (50%), sugiriendo que la transmisión vertical ocurrió, aunque de manera diferencial dependiendo del tipo de parto (Schultz *et al.* 2004). Un reciente estudio de Bäckhed y cols. en un completo análisis metagenómico de deposiciones, describió la microbiota de una cohorte de 98 madres y sus recién nacidos con muestras obtenidas los días siguientes al parto, 4 y 12 meses después (Bäckhed *et al.* 2015). A diferencia de muchos de los estudios anteriores que utilizan filogenia del ARN ribosomal 16S, la composición y diversidad microbiana fue determinada a través del ensamblaje de novo de metagenomas bacterianos comparables con las clasificaciones a nivel de especie. Entre las unidades taxonómicas operacionales obtenidas a partir de los perfiles metagenómicos (MetaOTUs) observadas en la microbiota fecal de los recién nacidos por parto vaginal, se encontraban mayoritariamente los géneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Parabacteroides* y *Escherichia/Shigella*. Adicionalmente, la tasa de similitud entre las MetaOTUs consideradas como primeros colonizadores en los bebés (muestras perinatales de deposición) y las MetaOTUs descritas en las deposiciones de la madre es cercana al 72%. Por el contrario, en los bebés nacidos por cesárea, existe un enriquecimiento de bacterias similares a las encontradas en la piel y la vía oral, además de bacterias ambientales presentes durante el nacimiento (por ej., *Enterobacter hormaechei*, *Haemophilus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Veillonella*). Los autores también reportaron una disminución significativa en la similitud entre las muestras de la madre y sus hijos, indicando que el tipo de parto es un factor fundamental en la estructuración de las comunidades bacterianas iniciales de la sucesión (Bäckhed *et al.* 2015). Un factor adicional que debe ser

considerado en el establecimiento de la microbiota del recién nacido es la edad gestacional. De hecho, neonatos prematuros y a término presentan diferencias significativas en la composición de su microbioma por medio de análisis de electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (Schwiertz *et al.* 2003). Por otra parte, La Rosa y cols. demostraron en un estudio de seguimiento de 58 niños prematuros residentes en una unidad de cuidados intensivos de neonatología, donde la exposición a agentes microbianos está altamente controlada, que el ensamblaje de la microbiota en estos recién nacidos ocurrió a través de una sucesión estable de bacterias específicas interrumpidas por cambios poblacionales significativos.

En detalle, la sucesión comenzó con el establecimiento de las clases bacterianas del grupo *Bacilli* a *Gammaproteobacteria* a *Clostridia*, independientemente del tipo de parto, dieta y edad de los recién nacidos. Dichos factores externos alteraron la temporalidad de la sucesión, no la secuencia de la misma, indicando que en el caso de bebés prematuros, la edad gestacional es el factor principal en el establecimiento de las primeras fases de la microbiota (La Rosa *et al.* 2014). La prematuridad también se asocia con crecientes tasas de admisión hospitalaria, enterocolitis necrotizante, nutrición enteral o parenteral, entre otros (Hällström *et al.* 2004; Wang *et al.* 2013).

**ii. Antibióticos.** Los antibióticos (AB) son uno de los medicamentos más comunes proporcionados a niños (Chai *et al.* 2012), y su injustificada sobreutilización parece ser universal entre diversos países (Hicks *et al.* 2013). Adicionalmente a los efectos adversos tradicionalmente relacionados con su uso y a la promoción de resistencia bacteriana, existe una asociación entre el uso de AB en niños, especialmente en la infancia temprana, y la presencia de enfermedades crónicas en adultos tales como asma, diabetes y obesidad (Biedermann & Rogler 2015). Se han propuesto cuatro tipos de disbiosis microbianas asociadas al uso de antibióticos: la pérdida de un taxón clave, la pérdida de diversidad, cambios en la capacidad metabólica, y el crecimiento (*blooming*) de patógenos. En detalle, los cambios agudos en la composición de la microbiota asociados con AB pueden llevar a enfermedades, ya sea por pérdida de taxones relevantes, que son claves en mantener un balance en la microbiota, y su impacto asociado en el desarrollo del sistema inmune, o por una pérdida significativa de la biodiversidad y sus consecuencias asociadas descritas claramente en la hipótesis de la higiene. Esta última señala que el aumento de la prevalencia de patologías alérgicas se correlaciona con una falta de estimulación inmune asociada a la exposición temprana a microorganismos (Okada *et al.* 2010). Los nichos vacíos pueden ser llenados por patógenos, y una recuperación lenta o parcial de la microbiota puede ser asociada con cambios en la composición de la misma luego de la recuperación, que derivan a su vez en cambios en su

capacidad funcional. Por otra parte, el impacto en la composición de la microbiota dependerá de la edad del hospedero, siendo más crítica en los primeros 6 meses de vida (cuando el desarrollo de la inmunidad adaptativa es crítico) (Rautava *et al.* 2004). Por lo tanto, el impacto a largo plazo de la exposición a AB (u otros factores ambientales) dependerá de la edad de exposición. Al respecto, el grupo de Nobel y cols. desarrolló un modelo murino, que recapitula el uso de antibióticos a dosis terapéuticas en la población joven, demostrando que la exposición temprana a macrólidos y  $\beta$ -lactámicos causa cambios progresivos en la composición, diversidad y funcionalidad de la microbiota gastrointestinal de manera dependiente del tipo y número de cursos de antibióticos administrados (Nobel *et al.* 2015).

**iii. Patrones de alimentación.** La composición inicial de la microbiota, basada principalmente en la ruta de parto, es transitoria y es profundamente modificada por los patrones de alimentación. Tras el nacimiento, a medida que los recién nacidos comienzan a consumir leche materna o fórmula, los cambios en el ambiente local intestinal continúan hasta alterar la composición y diversidad de especies bacterianas que habitan el intestino del lactante (Harmsen *et al.* 2000; Sela & Mills 2010). La leche humana contiene su propia microbiota caracterizada por la predominancia de *Proteobacterias* y *Firmicutes*, prebióticos (por ej., oligosacáridos de la leche humana) y factores antimicrobianos (por ej., sIgA, lactoferrina, lisozima) (Hunt *et al.* 2011). Las fuentes potenciales de bacterias presentes en la leche humana corresponden al intestino materno (vía éntero-mamaria), la microbiota de la piel del pecho y la microbiota oral del lactante. La composición de la leche humana es también influenciada por la edad gestacional (altas concentraciones de citoquinas e inmunoglobulinas) (Moles *et al.* 2015), el peso de la madre y la lactancia temprana tras el parto en comparación con etapas de lactancia posteriores (Cabrera-Rubio *et al.* 2012). Cambios en la predominancia de phyla bacterianos específicos han sido relacionados con el tipo de dieta. Bajo la influencia de la leche materna, el intestino del recién nacido es colonizado por *Proteobacterias* y *Firmicutes*, seguido por un incremento gradual en *Actinobacterias*. En contraste, *Enterococos* y *Enterobacterias* predominan en bebés alimentados con fórmula (Palmer *et al.* 2007). En un estudio comparativo de recién nacidos de 4 semanas alimentados exclusivamente por leche materna y fórmula, la microbiota intestinal en los primeros se compone principalmente con bacterias del phylum *Actinobacteria* con predominancia de la familia *Bifidobacteriaceae* y el género *Bifidobacterium*, en contraposición a una disminución en la proporción de *Actinobacterias*, con un concomitante aumento en *Firmicutes* y *Proteobacterias* (Lee *et al.* 2015).

Un estudio adicional por Koenig y cols. también sugirió que la diversidad de la microbiota estaba fuertemente influenciada por la

ingesta de alimentos, incrementando la diversidad de esta (Koenig *et al.* 2011). Con la inclusión de alimentos no lácteos y carbohidratos, los *Bacteroidetes* superaron la cantidad de *Proteobacterias* y *Actinobacterias*. Al término del primer año de vida, predominaban los *Bacteroides* y *Firmicutes* (Koenig *et al.* 2011; Vaishampayan *et al.* 2010), y a la edad de 2-3 años, el microbioma intestinal ya era similar al del intestino adulto (Yatsunenko *et al.* 2012).

### 3. Disbiosis microbianas y su rol en enfermedades pediátricas

**i. Enfermedades atópicas y asma:** el asma es una de las enfermedades inflamatorias crónicas más prevalentes en la niñez en países desarrollados, mostrando una tendencia al alza bastante significativa en los países en vías de desarrollo (Asher & Pearce 2014). La etiología de esta patología es compleja e incluye predisposiciones genéticas como exposiciones ambientales. En niños que no poseen una predisposición genética, se ha descrito una estrecha relación entre la exposición a antibióticos a temprana edad, que son capaces de modificar la composición y diversidad de bacterias intestinales, con un riesgo aumentado para el desarrollo de asma en la niñez independientemente si la exposición ocurre *in utero*, en el periodo neonatal o a través de la leche materna (Azad & Kozyrskyj 2012). Por otra parte, en el modelo murino se describen niveles de IgE circulantes anormalmente altos en ratones libres de gérmenes o con diversidad microbiana reducida en el tracto intestinal, indicando una estrecha correlación entre disbiosis microbianas y alteraciones inmunológicas características de enfermedades atópicas (Russell *et al.* 2013). El reciente establecimiento de una cohorte de 3542 recién nacidos y sus familias por un conglomerado de investigadores canadienses (CHILD) (Subbarao *et al.* 2015), con énfasis en el estudio del desarrollo de alergia y asma, presenta una oportunidad única para evaluar el efecto de la microbiota en dichas patologías pediátricas. Al respecto, un análisis de un subgrupo de 319 infantes de un año enrolados en esta cohorte demostró que los lactantes en riesgo de desarrollar asma presentaban una composición y diversidad de la microbiota diferencial a los 3 meses de edad con niveles disminuidos de los géneros bacterianos *Lachnospira*, *Veillonella*, *Faecalibacterium* y *Rothia*. Fuera de esto, la inoculación de estos géneros bacterianos en un modelo murino de asma mostró una disminución de la inflamación en la vía aérea, correlacionando directamente a la microbiota con la protección de la vía aérea (Arrieta *et al.* 2015).

**ii. Enfermedad inflamatoria intestinal:** al igual que las enfermedades alérgicas, la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), que incluye tanto la colitis ulcerosa (CU) como la enfermedad de Crohn (CD), es una patología de etiología compleja, caracterizada por inflamación crónica intestinal de grado variable, donde confluyen susceptibilidades genéticas (polimorfismos en NOD2 e IL-23R, entre otros)

(Liu *et al.* 2015), alteraciones a nivel inmune, cambios en los patrones de colonización de bacterias intestinales y una serie de factores ambientales. En población pediátrica, Hansen y cols. describieron en grupo pequeño de pacientes, una disminución en  $\alpha$ -diversidad en la microbiota determinada a partir de biopsias colónicas en pacientes con CD con respecto a controles con macroscopía y microscopía normal en el colon, si bien no observaron cambios significativos en la composición a nivel de phylum entre los grupos de pacientes con diagnósticos diferenciales (Hansen *et al.* 2012). Además, Kolho y cols., correlacionaron cambios en la composición y diversidad de la microbiota en muestras de deposiciones con los niveles de actividad inflamatoria determinada por niveles de calprotectina fecales en un grupo de 68 pacientes pediátricos con EII. A un mayor nivel de inflamación intestinal, observaron una reducción en la riqueza de la microbiota, que se caracterizaba por la abundancia de bacterias Gram-positivas, particularmente de los grupos *Clostridium* clústeres IV y XIVa (Kolho *et al.* 2015). Interesantemente, encontraron una asociación entre la presencia de determinados grupos microbianos que funcionaban como predictores del nivel de inflamación y con la respuesta al tratamiento con TNF- $\alpha$ , donde la presencia de dichos grupos funcionaba como predictor de la capacidad de responder al tratamiento. En ese mismo ámbito, Papa y cols., utilizando algoritmos que buscaban describir conjuntos de características que clasifican muestras en distintos subgrupos, analizaron data de secuenciación del gen 16s ribosomal obtenida tanto de datos publicados como de muestras fecales de pacientes pediátricos, e identificaron patrones bacterianos asociados con patología que distinguen pacientes controles de pacientes con CU y CD (Papa *et al.* 2012). Recientemente, Gevers y cols., en un estudio realizado en una de las cohortes pediátricas vírgenes a tratamientos más grandes para CD (n=447), demostraron una correlación entre estatus de la enfermedad y el aumento en la abundancia de las familias *Enterobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*, *Veillonellaceae*, y *Fusobacteriaceae*. Adicionalmente, describieron una disminución en los grupos de *Erysipelotrichales*, *Bacteroidales*, y *Clostridiales*. Otro hallazgo importante en el estudio de dicha cohorte fue la disminución en la diversidad de especies con cambios en la composición de la microbiota en los pacientes con CD expuestos a antibióticos, demostrando un efecto de amplificación de las disbiosis microbiana observada en los pacientes con CD (Gevers *et al.* 2014).

**iii. Obesidad:** otras consecuencias asociadas con la modificación de la microbiota intestinal es la aparición de cambios metabólicos negativos en el hospedero, como la obesidad y la diabetes tipo 2. Esta relación ha sido inicialmente evidenciada a partir de estudios en ratones libres de gérmenes, los cuales han demostrado resistencia al desarrollo de obesidad inducida por dieta, destacando un rol fundamental de la microbiota intestinal en la promoción

de la adiposidad (Bäckhed *et al.* 2007). La microbiota intestinal participa activamente en la cosecha de energía a partir de la dieta, proceso que se ve incrementado durante el desarrollo de la obesidad (Turnbaugh *et al.* 2006), tanto en un mayor procesamiento de polisacáridos y absorción de monosacáridos, como en el almacenamiento de triglicéridos en adipocitos, además de la ganancia de peso (Bäckhed *et al.* 2004). Un factor clave que influye en este proceso es la composición de la microbiota intestinal. Estudios han demostrado diferencias entre individuos no obesos y obesos, donde la microbiota intestinal de estos últimos se ha asociado a un mayor número de *Firmicutes* y *Actinobacterias*, junto a la disminución en *Bacteroidetes* (Ley *et al.* 2006; Turnbaugh *et al.* 2006). Notablemente, el fenotipo asociado con obesidad ha demostrado ser transmisible hacia ratones libres de gérmenes a través del trasplante de una microbiota "obesa" (proveniente ya sea desde humanos o ratones obesos), destacando el rol activo de las comunidades bacterianas sobre esta condición (Turnbaugh *et al.* 2006; Ridaura *et al.* 2014). Interesantemente, un reciente caso clínico reportó la ganancia significativa de peso en un paciente que recibió un trasplante de microbiota fecal desde un donante sano con sobrepeso, sugiriendo que la obesidad podría ser transmitida también en humanos (Alang & Kelly 2015). Por otra parte, la exposición temprana a antibióticos ha sido estrechamente relacionada con el desarrollo de obesidad en animales y humanos (Cox & Blaser 2015). Estudios han descrito un efecto de la exposición prenatal a antibióticos sobre el peso de neonatos y el desarrollo de obesidad durante la niñez (Vidal *et al.* 2013; Ajslev *et al.* 2011). Más aún, dosis sub-terapéuticas de antibióticos han demostrado incrementar la adiposidad en ratones tras el destete, lo que podría ser extrapolado a problemas metabólicos a largo plazo en lactantes (Cho *et al.* 2012).

**iv. Diabetes:** la diabetes es un desorden donde se observan elevados niveles de glucosa en la sangre, principalmente debido a la resistencia a la insulina y/o a la secreción inadecuada de esta. Funciones propias de la microbiota (por ej., producción de butirato y ácidos biliares secundarios) parecen ser claves para mejorar la sensibilidad a insulina (Allin *et al.* 2015). De hecho, pacientes con diabetes tipo 2 (DM2) se caracterizan por presentar una disbiosis microbiana intestinal, y una menor abundancia de bacterias productoras de butirato (Qin *et al.* 2012). Más aún, individuos obesos, los cuales presentan una menor riqueza en su microbiota fecal, han sido relacionados con un mayor grado de inflamación y a la vez una menor sensibilidad a la insulina (Le Chatelier *et al.* 2013). De esta manera, el perfil alterado en la microbiota de individuos obesos podría modular la permeabilidad intestinal e incrementar la secreción de endotoxinas llevando a la inflamación crónica y al posterior desarrollo de DM2 (Everard & Cani 2013). Igualmente, se han descrito diferencias en la microbiota de pacientes con DM2 frente a adultos no diabéticos, evidenciando una menor

diversidad fecal microbiana (Larsen *et al.* 2010). Fuera de esto, estas diferencias podrían reflejarse incluso en los recién nacidos, donde la composición bacteriana del neonato puede ser fuertemente influenciada por el estado de la diabetes materna (Hu *et al.* 2013), sugiriendo que la microbiota característica de dicha patología podría ser transferida por parte de la madre a sus hijos. En el caso de la diabetes de tipo 1 (DM1), a pesar de ser una enfermedad de tipo autoinmune, factores adicionales como la microbiota intestinal podrían cumplir un rol clave en esta patología, siendo conocido su papel en el desarrollo del sistema inmune y la mantención de la tolerancia a nivel de mucosa. Roesch y cols. describieron diferencias significativas en ciertas comunidades bacterianas responsables de la modulación de DM1 al momento del desarrollo de diabetes (Roesch *et al.* 2009). Más aún, un reporte reciente ha descrito diferencias en la composición de la microbiota de niños con DM1 frente a niños sanos, presentando un menor número de bacterias fundamentales para mantener la integridad intestinal, lo que podría explicar la alterada permeabilidad intestinal observada en este tipo de pacientes (Murri *et al.* 2013).

En recientes años, el estudio del microbioma humano y su relación con enfermedades se ha convertido en un campo de estudio de crecimiento explosivo determinado en gran parte por el advenimiento de tecnología de vanguardia, que ha permitido la secuenciación masiva del mismo. Sin embargo, la comprensión de su impacto en el desarrollo de morbilidad en humanos necesariamente requerirá de una etapa previa como es el conocimiento del desarrollo y ensamblaje precoz de la microbiota en recién nacidos, y como intervenciones médicas precoces en la vida de una ser humano, asociadas con estilos de vida occidentales modernos, y aparentemente inofensivos (ruta de parto, uso precoz de antibióticos, selección de fórmula láctea) pueden modificar en forma sustancial su conformación, y de esta manera tener un rol crítico en el desarrollo del sistema inmune en neonatos, lactantes y posteriormente a lo largo de la vida de un ser humano.

### Contribuciones y reconocimientos

CAS, ML y PRH contribuyeron con la revisión independiente de la literatura, selección de trabajos, la escritura y revisión crítica del manuscrito. Los autores declaran no tener conflictos de interés. Trabajo financiado por Fondecyt #1130387 y #11140232.

### Referencias

Ajslev T, Andersen CS, Gamborg M, Sørensen TI, Jess T. (2011). Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: the role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics. *International journal of obesity* **35**, 522–529.

Alang N, Kelly CR. (2015). Weight Gain After Fecal Microbiota Transplantation. *Open Forum Infectious Diseases* **2**, ofv004.

Allin KH, Nielsen T, Pedersen O. (2015). Mechanisms in endocrinology: Gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus. *European Journal of Endocrinology* **172**, R167–R177.

Arrieta MC, Stiemsma LT, Dimitriu PA, Thorson L, Russell S, Yurist-Doutsch S, Kuzeljevic B, Gold MJ, Britton HM, Lefebvre DL, Subbarao P, Mandhane P, Becker A, McNagny KM, Sears MR, Kollmann T; CHILD Study Investigators, Mohn WW, Turvey SE, Finlay BB. (2015). Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Science Translational Medicine* **7**, 307ra152.

Asher I, Pearce N. (2014). Global burden of asthma among children. *The international journal of tuberculosis and lung disease* **18**, 1269–1278.

Azad MB, Kozyrskyj AL. (2012). Perinatal programming of asthma: the role of gut microbiota. *Clinical & developmental immunology* **2012**, 932072.

Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, Li Y, Xia Y, Xie H, Zhong H, Khan MT, Zhang J, Li J, Xiao L, Al-Aama J, Zhang D, Lee YS, Kotowska D, Colding C, Tremaroli V, Yin Y, Bergman S, Xu X, Madsen L, Kristiansen K, Dahlgren J, Wang J. (2015). Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host & Microbe* **17**, 690–703.

Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**, 979–984.

Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**, 15718–15723.

Biasucci G, Benenati B, Morelli L, Bessi E, Boehm G. (2008). Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *The Journal of nutrition* **138**, 1796S–1800S.

Biedermann L, Rogler G. (2015). The intestinal microbiota: its role in health and disease. *European journal of pediatrics* **174**, 151–167.

Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. (2012). The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *American Journal of Clinical Nutrition* **96**, 544–551

- Chai G, Governale L, McMahon AW, Trinidad JP, Staffa J, Murphy D. (2012). Trends of outpatient prescription drug utilization in US children, 2002-2010. *Pediatrics* **130**, 23–31.
- Cho I, Yamanishi S, Cox L, Methé BA, Zavadil J, Li K, Gao Z, Mahana D, Raju K, Teitler I, Li H, Alekseyenko AV, Blaser MJ. (2012). Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature* **488**, 621–626.
- Cho I, Blaser MJ. (2012). The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature reviews Genetics* **13**, 260–170.
- Cox LM, Blaser MJ. (2015). Antibiotics in early life and obesity. *Nature reviews Endocrinology* **11**, 182–190.
- Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, Knight R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**, 11971–11975.
- Everard A, Cani PD. (2013). Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best practice & research Clinical gastroenterology* **27**, 73–83.
- Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, Schwager E, Knights D, Song SJ, Yassour M, Morgan XC, Kostic AD, Luo C, González A, McDonald D, Haberman Y, Walters T, Baker S, Rosh J, Stephens M, Heyman M, Markowitz J, Baldassano R, Griffiths A, Sylvester F, Mack D, Kim S, Crandall W18, Hyams J, Huttenhower C, Knight R, Xavier RJ. (2014). The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host and Microbe* **15**, 382–392.
- Hällström M, Eerola E, Vuento R, Janas M, Tammela O. (2004). Effects of mode of delivery and necrotising enterocolitis on the intestinal microflora in preterm infants. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* **23**, 463–470.
- Hansen R, Russell RK, Reiff C, Louis P, McIntosh F, Berry SH, Mukhopadhyay I, Bisset WM, Barclay AR, Bishop J, Flynn DM, McGrogan P, Loganathan S, Mahdi G, Flint HJ, El-Omar EM, Hold GL. (2012). Microbiota of de-novo pediatric IBD: increased *Faecalibacterium prausnitzii* and reduced bacterial diversity in Crohn's but not in ulcerative colitis. *The American journal of gastroenterology* **107**, 1913–1922.
- Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, Welling GW. (2000). Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **30**, 61–67.
- Health at a Glance: OECD Indicators. (2013). *Consultado el*: (01 de diciembre de 2015). En: <http://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2013>.
- Hicks LA, Taylor TH Jr, Hunkler RJ. (2013). More on U.S. Outpatient Antibiotic Prescribing, 2010. *New England Journal of Medicine* **369**, 1175–1176.
- Hu J, Nomura Y, Bashir A, Fernandez-Hernandez H, Itzkowitz S, Pei Z, Stone J, Loudon H, Peter I. (2013). Diversified microbiota of meconium is affected by maternal diabetes status. *PLoS one* **8**, e78257.
- Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, Schütte UM, Beck DL, Abdo Z, Fox LK, Williams JE, McGuire MK, McGuire MA. (2011). Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS one* **6**, e21313.
- Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Angenent LT, Ley RE. (2011). Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**, 4578–4585.
- Kolho KL, Korpela K, Jaakkola T, Pichai MV, Zoetendal EG, Salonen A, de Vos WM. (2015). Fecal Microbiota in Pediatric Inflammatory Bowel Disease and Its Relation to Inflammation. *The American Journal of Gastroenterology* **110**, 921–930.
- La Rosa PS, Warner BB, Zhou Y, Weinstock GM, Sodergren E, Hall-Moore CM, Stevens HJ, Bennett WE Jr, Shaikh N, Linneman LA, Hoffmann JA, Hamvas A, Deych E, Shands BA, Shannon WD, Tarr PI. (2014). Patterned progression of bacterial populations in the premature infant gut. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **111**, 12522-12527.
- Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, Al-Soud WA, Sørensen SJ, Hansen LH, Jakobsen M. (2010). Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS one* **5**, e9085.
- Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, Almeida M, Arumugam M, Batto JM, Kennedy S, Leonard P, Li J, Burgdorf K, Grarup N, Jørgensen T, Brandslund I, Nielsen HB, Juncker AS, Bertalan M, Levenez F, Pons N, Rasmussen S, Sunagawa S, Tap J, Tims S, Zoetendal EG, Brunak S, Clément K, Doré J, Kleerebezem M, Kristiansen K, Renault P, Sicheritz-Ponten T, de Vos WM, Zucker JD, Raes J, Hansen T; MetaHIT consortium, Bork P, Wang J, Ehrlich SD, Pedersen O. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* **500**, 541–546.

- Lee SA, Lim JY, Kim BS, Cho SJ, Kim NY, Kim OB, Kim Y. (2015). Comparison of the gut microbiota profile in breast-fed and formula-fed Korean infants using pyrosequencing. *Nutrition Research and Practice* **9**, 242–248.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. (2006). Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature* **444**, 1022–1023.
- Liu JZ, van Sommeren S, Huang H, Ng SC, Alberts R, Takahashi A, Ripke S, Lee JC, Jostins L, Shah T, Abedian S, Cheon JH, Cho J, Daryani NE, Franke L, Fuyuno Y, Hart A, Juyal RC, Juyal G, Kim WH, Morris AP, Poustchi H, Newman WG, Midha V, Orchard TR, Vahedi H, Sood A, Sung JJ, Malekzadeh R, Westra HJ, Yamazaki K, Yang SK; International Multiple Sclerosis Genetics Consortium; International IBD Genetics Consortium, Barrett JC, Franke A, Alizadeh BZ, Parkes M, B K T, Daly MJ, Kubo M, Anderson CA, Weersma RK. (2015). Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations. *Nature Genetics* **47**, 979–986.
- Moles L, Manzano S, Fernández L, Montilla A, Corzo N, Ares S, Rodríguez JM, Espinosa-Martos I. (2015). Bacteriological, Biochemical, and Immunological Properties of Colostrum and Mature Milk From Mothers of Extremely Preterm Infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* **60**, 120–126.
- Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, Cardona F, Soriguer F, Queipo-Ortuño MI. (2013). Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study. *BMC medicine* **11**, 46.
- Nobel YR, Cox LM, Kirigin FF, Bokulich NA, Yamanishi S, Teitler I, Chung J, Sohn J, Barber CM, Goldfarb DS, Raju K, Abubucker S, Zhou Y, Ruiz VE, Li H, Mitreva M, Alekseyenko AV, Weinstock GM, Sodergren E, Blaser MJ. (2015). Metabolic and metagenomic outcomes from early-life pulsed antibiotic treatment. *Nature communications* **6**, 7486.
- Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. (2010). The “hygiene hypothesis” for autoimmune and allergic diseases: An update. *Clinical and Experimental Immunology* **160**, 1–9.
- Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. (2007). Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS biology* **5**, e177.
- Papa E, Docktor M, Smillie C, Weber S, Preheim SP, Gevers D, Giannoukos G, Ciulla D, Tabbaa D, Ingram J, Schauer DB, Ward DV, Korzenik JR, Xavier RJ, Bousvaros A, Alm EJ. (2012). Non-invasive mapping of the gastrointestinal microbiota identifies children with inflammatory bowel disease. *PLoS one* **7**, e39242.
- Prince AL, Chu DM, Seferovic MD, Antony KM, Ma J, Aagaard KM. (2015). The Perinatal Microbiome and Pregnancy: Moving Beyond the Vaginal Microbiome. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* **5**, a023051.
- Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, Liang S, Zhang W, Guan Y, Shen D, Peng Y, Zhang D, Jie Z, Wu W, Qin Y, Xue W, Li J, Han L, Lu D, Wu P, Dai Y, Sun X, Li Z, Tang A, Zhong S, Li X, Chen W, Xu R, Wang M, Feng Q, Gong M, Yu J, Zhang Y, Zhang M, Hansen T, Sanchez G, Raes J, Falony G, Okuda S, Almeida M, LeChatelier E, Renault P, Pons N, Batto JM, Zhang Z, Chen H, Yang R, Zheng W, Li S, Yang H, Wang J, Ehrlich SD, Nielsen R, Pedersen O, Kristiansen K, Wang J. (2012). A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* **490**, 55–60.
- Rautava S, Ruuskanen O, Ouwehand A, Salminen S, Isolauri E. (2004). The hygiene hypothesis of atopic disease—an extended version. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **38**, 378–388.
- Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, Griffin NW, Lombard V, Henrissat B, Bain JR, Muehlbauer MJ, Ilkayeva O, Semenkovich CF, Funai K, Hayashi DK, Lyle BJ, Martini MC, Ursell LK, Clemente JC, Van Treuren W, Walters WA, Knight R, Newgard CB, Heath AC, Gordon JI. (2014). Cultured gut microbiota from twins discordant for obesity modulate adiposity and metabolic phenotypes in mice. *Science* **341**, 1–22.
- Roesch LF, Lorca GL, Casella G, Giongo A, Naranjo A, Pionzio AM, Li N, Mai V, Wasserfall CH, Schatz D, Atkinson MA, Neu J, Triplett EW. (2009). Culture-independent identification of gut bacteria correlated with the onset of diabetes in a rat model. *The ISME journal* **3**, 536–548.
- Russell SL, Gold MJ, Willing BP, Thorson L, McNagny KM, Finlay BB. (2013). Perinatal antibiotic treatment affects murine microbiota, immune responses and allergic asthma. *Gut Microbes* **4**, 158–164.
- Schultz M, Göttl C, Young RJ, Iwen P, Vanderhoof JA. (2004). Administration of oral probiotic bacteria to pregnant women causes temporary infantile colonization. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* **38**, 293–297.
- Schwartz A, Gruhl B, Löbnitz M, Michel P, Radke M, Blaut M. (2003). Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatric research* **54**, 393–399.
- Sela D, Mills D. (2010). Nursing our microbiota: Molecular linkages between bifidobacteria and milk oligosaccharides. *Trends in Microbiology* **18**, 298–307.

- Subbarao P, Anand SS, Becker AB, Befus AD, Brauer M, Brook JR, Denburg JA, HayGlass KT, Kobor MS, Kollmann TR, Kozyrskyj AL, Lou WY, Mandhane PJ, Miller GE, Moraes TJ, Pare PD, Scott JA, Takaro TK, Turvey SE, Duncan JM, Lefebvre DL, Sears MR; CHILd Study investigators. (2015). The Canadian Healthy Infant Longitudinal Development (CHILd) Study: examining developmental origins of allergy and asthma. *Thorax* **70**, 998–1000.
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* **444**, 1027–1031.
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. (2007). The human microbiome project. *Nature* **449**, 804–810.
- Vaishampayan PA, Kuehl JV, Froula JL, Morgan JL, Ochman H, Francino MP. (2010). Comparative metagenomics and population dynamics of the gut microbiota in mother and infant. *Genome biology and evolution* **2**, 53–66.
- Vidal AC, Murphy SK, Murtha AP, Schildkraut JM, Soubry A, Huang Z, Neelon SE, Fuemmeler B, Iversen E, Wang F, Kurtzberg J, Jirtle RL, Hoyo C. (2013). Associations between antibiotic exposure during pregnancy, birth weight and aberrant methylation at imprinted genes among offspring. *International journal of obesity* **37**, 907–913.
- Wang X, Buhimschi CS, Temoin S, Bhandari V, Han YW, Buhimschi IA. (2013). Comparative Microbial Analysis of Paired Amniotic Fluid and Cord Blood from Pregnancies Complicated by Preterm Birth and Early-Onset Neonatal Sepsis. *PLoS one* **8**, e56131.
- Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Baldassano RN, Anokhin AP, Heath AC, Warner B, Reeder J, Kuczynski J, Caporaso JG, Lozupone CA, Lauber C, Clemente JC, Knights D, Knight R, Gordon JI. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* **486**, 222–227.