



**Centro de Investigación en Alimentación
y Desarrollo, A. C.**

**DISBIOSIS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL Y
CAMBIOS DIETARIOS DURANTE LA EVOLUCIÓN DE
DIABETES TIPO 1, EN ESCOLARES SONORENSES**

Por:

Lorena López Domínguez

TESIS APROBADA POR LA
COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS

Hermosillo, Sonora

Agosto de 2015

APROBACIÓN

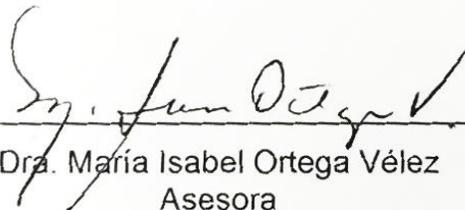
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Lorena López Domínguez, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



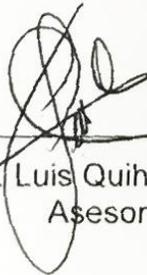
Dra. Ana María Calderón de la Barca
Directora de Tesis



Dra. Graciela Caire Juvera
Asesora



Dra. María Isabel Ortega Vélez
Asesora



Dra. Luis Quihui Cota
Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



Dr. Pablo Wong González

Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo por brindarme un lugar para continuar mi preparación académica. A las personas que laboran en él por su asesoría y atención.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico otorgado durante estos 2 años.

A la Dra. Ana María Calderón de la Barca por permitirme trabajar con ella, por brindarme su apoyo y mostrarme el camino de la investigación. Por todas sus enseñanzas, por confiar en mi y brindarme su amistad.

A mi comité de tesis: Dra. Isabel Ortega, Dr. Luis Quihui, y en especial a la Dra. Graciela Caire por sus consejos y su valiosa cooperación en las diferentes etapas de este trabajo.

A las personas que me brindaron ayuda técnica: QB. René Valenzuela y MC. Sandra Aguayo, por su ayuda en los análisis de las muestras.

A los profesores que nos guiaron durante el primer año de la maestría, por sus enseñanzas y paciencia.

A las doctoras Gabriela García y Cynthia Bueno, por su apoyo y cooperación en el reclutamiento de participantes. A los niños y familias participantes, por su valiosa cooperación y paciencia para la realización de este trabajo

A los investigadores que me facilitaron equipo necesario para sacar adelante el trabajo experimental: Dr. Luis Quihui y Dr. Humberto Astiazarán.

A Maribel, por siempre acompañarme y ayudarme tanto, haciendo más llevadero todo el trabajo. A Teté, por los incontables consejos y enseñanzas, su apoyo y confianza. Gracias por la convivencia diaria y su amistad sincera. A Lore, por conocerme, comprenderme y apoyarme. A Kaz y Mildren por su amistad y enseñanzas estos dos años.

A mis papás por su amor y apoyo incondicional en todo momento, por motivarme a seguir adelante y porque gracias a ellos soy lo que soy. Gracias por todo lo que hicieron para que pudiera llegar a este día.

A Diana y Mar por estar siempre presentes, por su cariño y soporte. Por los consejos que me han dado y permitido dar.

A Gabriel por su apoyo y comprensión en todo momento, por enseñarme a no rendirme. Por ser un ejemplo de que el esfuerzo y trabajo constante lo valen.

A mis compañeros del Laboratorio de Proteínas, por los festejos, consejos y la convivencia.

Gracias a todos, sin ustedes esta tesis no hubiera podido realizarse.

DEDICATORIA

En memoria de Huguito, la sonrisa y alegría; y mi tía Silvia, amor y paciencia.

A mi linda familia: Ramón, Loreto, Diana y Mariana; mi soporte diario.

A mi motivación: Gabriel.

A mi querida asesora: Dra. Ana María.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABLAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	3
Diabetes Mellitus Tipo 1	3
Microbiota Intestinal	4
Dieta	6
Dieta en Diabetes Mellitus Tipo 1	7
Carbohidratos y Fibra	8
Grasa.....	12
Proteína	14
Índice glicémico.....	15
Dieta y Microbiota Intestinal	16
Macronutrientes y microbiota intestinal.....	17
Alimentación y microbiota	18
HIPÓTESIS	20
OBJETIVOS	20
General.....	20
Particulares	20
SUJETOS Y MÉTODOS	21
Evaluación Dietética.....	22
Evaluación Antropométrica	23
Toma de Muestras	23
Análisis de Auto-anticuerpos	24
Extracción de ADN genómico	24
Tipificación de Haplotipos	24
Análisis de Microbiota	25
Análisis Estadístico	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
Características de la Muestra	28
Tipificación de Haplotipos	32
Análisis Dietético.....	32
Análisis de Microbiota	44
Microbiota, IMC y hemoglobina glicosilada	46
Análisis de Microbiota y Dieta	47
CONCLUSIÓN	52
BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXOS	63
Calderón de la Barca, A. M., López Domínguez, L. y Mejía León, M. E. ¿Podrían prevenirse o tratarse la enfermedad celiaca y la diabetes tipo 1 modulando la microbiota intestinal a través de prácticas dietéticas?. Cuadernos de Nutrición. 2014:217-26	

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estado antropométrico de los niños con DT1, de acuerdo al Puntaje Z de IMC para la edad (OMS, 2007)	30
2	Promedio de abundancia relativa de <i>Bacteroides</i> en cuanto a bacterias totales, presentes en las heces de los niños del estudio	45

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Iniciadores específicos de alelos de HLA para las reacciones de PCR	25
2	Características descriptivas de los niños participantes	29
3	Consumo diario promedio de nutrientes de los niños sanos y con DT1, comparado con las recomendaciones del IOM e ISPAD	33
4	Consumo diario promedio de nutrientes y valor de hemoglobina glicosilada de los niños con DT1 de menos de un año de evolución, comparado con las recomendaciones del IOM e ISPAD	37
5	Porciones de alimentos consumidos al día por los niños participantes	43
6	Modelos de asociación entre la abundancia de Bacteroides en la microbiota intestinal y el consumo de nutrientes de los niños con DT1	48

RESUMEN

En la Diabetes tipo 1 (DT1) hay producción deficiente de insulina, por destrucción autoinmune de las células β pancreáticas. El tratamiento consiste en administrar insulina, seguir buenos hábitos de alimentación y ejercicio y cuidar los niveles de glucosa sanguínea. Las modificaciones dietarias inadecuadas y el desbalance de la microbiota intestinal, podrían interferir para el buen control de la enfermedad en los niños con DT1. El objetivo del estudio fue evaluar la relación entre la acumulación de *Bacteroides* en la microbiota intestinal de escolares sonorenses con DT1 y su dieta, a lo largo de 6 meses de evolución. Participaron en el estudio 21 niños con DT1 y 6 sanos, registramos sus datos clínicos y analizamos auto-anticuerpos (GAD/IA2) y haplotipos de riesgo (DQ2/DQ8) en sangre. En tres sesiones, al inicio y después de 3 y 6 meses, evaluamos su dieta y microbiota fecal. La edad promedio de los participantes fue 11.83 ± 1.92 años, el 68% niñas y 32% niños. El 38% de los niños con DT1 presentaron el genotipo de alto riesgo DQ2/DQA*0301; el resto, con riesgo moderado y el 89.4% tenía dos auto-anticuerpos positivos. Después del diagnóstico los niños disminuyeron el consumo de energía, grasa y carbohidratos, aumentando la proporción de proteína. Los alimentos más consumidos fueron huevo, tortillas y frijoles, en todos los grupos, en diferente presentación. Sólo el 14% de estos niños tenía hemoglobina glicosilada $<7.5\%$ recomendada. La proporción alta de *Bacteroides* en la microbiota (33%) de los niños al diagnóstico, fue disminuyendo con el tiempo de evolución, sin llegar a igualar a la de niños sanos. El consumo de proteína, grasa total y saturada se relacionó positivamente y el de fibra negativamente, con la proporción de *Bacteroides* en la microbiota. Posiblemente la microbiota no recupera su balance durante la evolución de DT1, debido a los cambios en la dieta.

Palabras clave: Diabetes tipo 1, Microbiota intestinal, Cambios dietéticos, Escolares sonorenses

ABSTRACT

Type 1 Diabetes (T1D) is characterized by a defective production of insulin, caused by an autoimmune destruction of pancreatic β cells. Its treatment involves exogenous insulin administration, healthy eating habits, exercise and frequent monitoring of blood glucose levels. Dietary changes and intestinal microbiota disbiosis may interfere in a proper disease control in T1D children. The aim of this study was to evaluate the *Bacteroides* proportion in the fecal microbiota of Sonoran scholars with T1D, and their diet throughout 6 months. Participants were 21 T1D children and 6 healthy children, their clinical data were collected and autoantibodies (GAD/IA2) and risk haplotypes (DQ2/DQ8) were analyzed. Diet and fecal microbiota were assessed in three periods: at onset, 3 and 6 months later. The average age of participants was 11.83 ± 1.92 years, 32 % male and 68% female. The highest risk phenotype (DQ2/DQA*0301) was presented in 38% of participants, the rest were moderately predisposed to T1D, and 89.4% had two positive auto-antibodies. After diagnosis, children decreased the energy, fat and carbohydrate intake, thus, increasing the protein proportion. The most consumed foods in all groups were eggs, tortilla and beans, using different cooking methods. Likewise, only 14% of these children were below the 7.5% of glycated hemoglobin recommended. The high *Bacteroides* proportion in microbiota (33%) of T1D children at onset, decreased along the evolution time without matching the low abundance of healthy children. There was a positive association of the protein, total and saturated fat intakes with the *Bacteroides* proportion, and a negative association was found with fiber intake. Possibly, the microbiota disbiosis is not returning to full balance after diagnosis, due to diet composition in DT1 children.

Key words: Type 1 Diabetes, Gut microbiota, Dietary changes, Sonoran school children

INTRODUCCIÓN

La diabetes tipo 1 (DT1) es la forma más común en la niñez, y una de las principales enfermedades autoinmunes en esta edad. Se caracteriza por inadecuado metabolismo de carbohidratos, debido a la destrucción de las células β del páncreas. Esto resulta en producción deficiente de insulina y por consiguiente, en hiperglicemia. La DT1 se define por la presencia de uno o más de los marcadores autoinmunes, como auto-anticuerpos contra insulina (IAA), contra Glutamato Descarboxilasa (GAD) o contra tirosina fosfatasa pancreática (IA-2). Se presenta típicamente en menores de 14 años, cuando se ha destruido cerca del 80% de las células β . Los genes que predisponen a la DT1 son DQA y DQB, ya que para que se desarrolle, deben estar presentes los haplotipos HLA DR4-DQ8 y DR3-DQ2 (ADA, 2015).

Además del factor genético, descrito como determinante para que se desarrolle DT1, hay factores ambientales también asociados a su desencadenamiento. Se ha encontrado en ratones y humanos, evidencia sobre la influencia de la microbiota en la DT1, mostrando diferencias tanto en diversidad, como en composición. No se sabe hasta qué grado estas diferencias son causa o consecuencia de la enfermedad; ni el grado en que están influenciadas por la dieta.

El tratamiento de la DT1 se basa en la administración de dosis basales de insulina, además de aquellas relacionadas con la carga glicémica de los alimentos. Incluye además la adopción de hábitos de alimentación saludable, buen nivel de actividad física y evaluación frecuente de la glucosa en sangre,

todo ello para mantenerla lo más cercano posible al rango normal. En el afán de cumplir con estos requisitos, en los niños con DT1 se modifica el consumo dietario, alejándose por lo común de las recomendaciones para una dieta sana.

En Sonora, la alimentación está basada en alimentos de origen animal y harinas refinadas, por lo que al diagnóstico los niños con DT1, deben cambiar sus hábitos de alimentación a otros más saludables, para mantener el control glicémico. No se sabe hasta dónde estos cambios afecten también la composición de la microbiota intestinal y por ende, el control de la enfermedad. Por ello, se realizó un estudio de seguimiento de escolares sonorenses con DT1, evaluando en tres tiempos de la evolución, el equilibrio de su microbiota intestinal, con relación a la proporción de los nutrientes ingeridos y su tipo. Esto, para conocer la influencia de la dieta en la disbiosis de la microbiota de los niños con DT1, a partir del diagnóstico y posteriormente durante la evolución.

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Diabetes Mellitus Tipo 1

La DT1 se puede diagnosticar a cualquier edad, sin embargo, es una de las enfermedades autoinmunes más frecuentes en la niñez, diagnosticándose por lo común antes de los 14 años (ADA, 2015). Se estima que a nivel mundial el 8.3% de las personas tiene algún tipo de diabetes, con el 10 al 15% de todos los casos de diabetes, como DT1 (OECD, 2011). De más de 400 mil niños que viven con DT1 en el mundo, la segunda región con mayor cantidad es América del Norte y el Caribe (22%), precedido sólo por Europa (26%) (FID, 2013). En México, no se conoce con exactitud la prevalencia de esta enfermedad, pero se calcula alrededor de 1:300 a 1:200. En el estado de Sonora, la incidencia incrementó de 1.6 a 3.5 casos por cada 100 mil habitantes, entre el año 2000 y el 2003 (Enríquez-Leal et al., 2010).

Así, el número de personas que desarrolla DT1 ha ido en aumento y se estima que cada año la incidencia incrementa en 3% (FID, 2013). Se desconocen las causas que han provocado este aumento, aunque se infiere que hay factores ambientales que influyen en el desarrollo o desencadenamiento de la enfermedad, además de los genéticos (Knip & Simell, 2012).

Cerca del 40% del riesgo genético para el desarrollo de la DT1 se asocia al antígeno leucocitario humano (HLA) (Kantarova et al., 2012). En más del 90% de los niños con DT1 se encuentran los haplotipos HLA DR4-DQ8 y DR3-DQ2 (Notkins & Lernmark, 2001). Sin embargo, la mayoría de las personas con estos

alelos no necesariamente presentan la enfermedad y la combinación de los mismos difiere entre una y otra población. Por ello, Mejía-León et al. (2015), publicaron un gradiente de riesgo en donde se muestran las combinaciones de alelos más comunes en niños sonorenses y el riesgo que representan estas combinaciones en la población general, para desarrollar DT1.

Los factores ambientales de riesgo para la DT1, se relacionan con la inducción de la autoinmunidad en las células β del páncreas (Ma & Chan, 2009). Entre éstos, se incluye el parto por cesárea (Cardwell et al., 2008), la introducción temprana de proteínas de leche de vaca (Lamb et al., 2015b, Ziegler et al., 2003) y el incremento en la incidencia de obesidad infantil (Pozzilli et al., 2011). Todos estos factores se relacionan en una constante: la disminución de la inmunidad intestinal y la participación de la inmunidad adaptativa en el daño a las células β del páncreas, en personas susceptibles.

Se han investigado factores protectores para el desarrollo de DT1. El amamantamiento por 12 meses o más se relaciona con menor riesgo de autoinmunidad en niños genéticamente predispuestos (Lund-Blix et al., 2015). Así también, la introducción gradual de alimentos sólidos entre los 4 o 5 meses, sin eliminar la leche materna puede conferir un efecto protector para el desarrollo de la autoinmunidad, en estos niños (Frederiksen et al., 2013).

Microbiota Intestinal

Al conjunto de microorganismos que colonizan el tracto gastrointestinal se le conoce como microbiota. La población microbiana incluye 100 billones de bacterias de 500 a 1000 especies distintas, esenciales para preservar íntegra la barrera de la mucosa intestinal (Vajro et al., 2013). Habitan principalmente en el intestino grueso, por lo que cerca del 60% de las heces están compuestas por bacterias. Los géneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*,

Lactobacillus, *Fusobacterium*, son los que predominan en el intestino (Guarner, 2007). Estas bacterias colonizan el organismo desde el nacimiento y su composición está relacionada con los hábitos de alimentación, el fenotipo del hospedero, la zona geográfica y el uso de antibióticos (Zhang et al., 2010).

Se ha propuesto clasificar la composición de la microbiota en tres enterotipos diferentes: uno dominado por *Bacteroides*, el cual obtiene energía principalmente de la fermentación de carbohidratos y proteínas, otro por *Prevotella* conocido como degradador de mucina y otro por *Ruminococcus* (Arumugam et al., 2011). Se ha descrito que estos enterotipos son independientes de la zona geográfica.

El epitelio intestinal es una barrera que permite la entrada selectiva de nutrientes, iones, agua y otras sustancias en el lumen. Así también, limita la entrada de posibles elementos nocivos, incluyendo a las bacterias y sus bioproductos (Vajro et al., 2013). Cuando la composición de la microbiota se ve afectada, se incrementa la permeabilidad de la mucosa intestinal. Esto provoca un aumento en el paso de elementos nocivos (bacterias, hongos, o proteínas sin digerir), del lumen intestinal hacia la submucosa y de ahí al torrente sanguíneo (Guarner, 2007). Este aumento en la permeabilidad intestinal puede participar como factor en la inducción de la respuesta inmune en el desarrollo de la DT1.

Existen diferencias taxonómicas entre la microbiota intestinal de niños sanos y los que presentan autoinmunidad (Brown et al., 2011). Varios estudios en diferentes poblaciones han analizado estas diferencias, encontrando un desbalance en la composición de la microbiota en niños con autoinmunidad y con diagnóstico de DT1, comparado con aquellos saludables (Brown et al., 2011, Davis-Richardson et al., 2014, Mejía-León et al., 2014, Murri et al., 2013). Los estudios coinciden en que el género *Bacteroides* es el más abundante en la microbiota intestinal de los niños con DT1. Por ello, es también el que muestra

las diferencias más marcadas con niños sanos, donde su proporción es menor, y con DT1 en diferentes periodos de la enfermedad.

Uno de los estudios de microbiota intestinal en niños con DT1 fue realizado en niños sonorenses. Éste, mostró que el desbalance de la microbiota al diagnóstico no se recuperó por completo después de que la DT1 fue controlada (Mejía-León et al., 2014). Esto hace suponer que la disbiosis es causada por la enfermedad misma o que hay otros factores afectando la composición de la microbiota.

Algunos de los factores que afectan la composición de la microbiota intestinal, son la presencia de infecciones y cambios en la dieta. Estos, son también factores involucrados en la maduración de las funciones inmuno-reguladoras, que pueden acelerar el desarrollo de enfermedades autoinmunes (Tack et al., 2010). Así mismo, se han relacionado diferentes proporciones de bacterias en la microbiota intestinal con distintos patrones dietarios.

Dieta

Es importante conocer los alimentos que componen la dieta de un individuo o población y las cantidades ingeridas. De esta manera se podrá saber si los alimentos cubren sus necesidades de nutrimentos y clasificar el grado de adecuación de la dieta (Casanueva et al., 2001). De acuerdo al Instituto de Medicina de los Estados Unidos (IOM) (Otten et al., 2006), las recomendaciones de ingestión de nutrientes para la población general incluyen que el 45 al 65 % de la energía total diaria provenga de carbohidratos, incluyendo 26-31 g de fibra/día y menos del 10 % provenga de carbohidratos simples. Además, que entre el 10 y 30 % de la energía consumida sea proveniente de proteína y del 25 al 35% de grasa, incluyendo menos del 10% de la saturada.

La población sonorense se ha asociado al consumo elevado de carne y derivados. Un estudio realizado por González Siqueiros (2008), evaluó el consumo dietario en individuos sonorenses, así como su fuente. Encontró que el 51.5% de la energía consumida proviene de carbohidratos, principalmente de tortillas de maíz y harina de trigo, así como refrescos y frituras. Describe además un consumo promedio de 20 g de fibra/día proveniente de frijol, tortilla de maíz y harina. El consumo de proteínas, mostró ser el 13% de la energía total, la cual provenía de carne de res y pollo, tortilla de maíz y harina de trigo, leche entera y huevo. Mientras tanto, el 35% de grasa resultó ser proveniente de carne de res, tortilla de harina de trigo, frijol guisado, leche entera y aceite de maíz, lo cual suma una ingestión del 12.5% de la energía consumida, derivada de grasa saturada.

Estos resultados indican que la población sonorense tiene un consumo adecuado de carbohidratos, mientras que la ingestión de fibra y proteína es menor a la recomendación. El consumo de grasa total como parte de la energía mostró ser adecuado, sin embargo la mayor parte es de tipo saturada, lo que excede la recomendación.

Quizán Plata et al. (2013), evaluaron la dieta en escolares sonorenses, encontrando un consumo de carbohidratos del 57% de la energía total, 13.5% de proteína y 31.3% proveniente de grasa. Esto indica que el consumo dietario de escolares es similar al de la población general, con ingestión adecuada de carbohidratos y grasa y menor que la recomendación en cuanto a proteína.

Dieta en Diabetes Mellitus Tipo 1

El tratamiento dietario es un elemento esencial en el manejo de la DT1. Entre sus objetivos se incluyen mantener los niveles de glucosa en sangre, presión arterial y un perfil lipídico, dentro de los rangos normales. Esto, para prevenir o

retrasar la aparición de complicaciones y apoyar al crecimiento y desarrollos adecuados (ADA, 2015). Esto se logra en conjunto con terapias médicas para el control de la insulina, hábitos de alimentación saludables, actividad física regular y evaluación frecuente de la glucosa en sangre.

En la actualidad, gracias a la flexibilidad en la administración de insulina, las personas que padecen DT1 manejan regímenes dietarios menos estrictos. Esto permite que la restricción en el consumo de carbohidratos sea menor y por lo tanto, los niños diabéticos pueden llevar estilos de vida más normales (Rovner & Nansel, 2009). En contraparte, también se ha vuelto más sencillo el consumo de alimentos poco saludables. No se ha encontrado evidencia para que existan diferencias en las necesidades nutricionales para niños con DT1 comparadas con las de niños sanos. Los niños con DT1 deben seguir las recomendaciones para la población general, basándose en una dieta que contenga variedad de alimentos y no sólo limitar azúcares y otro tipo de carbohidratos (ADA, 2015).

Carbohidratos y Fibra

El principal objetivo del tratamiento dietario en personas con DT1 es reducir los niveles de glucosa sanguínea posprandial. Ésta, se encuentra determinada principalmente por la cantidad y el tipo de carbohidratos consumidos (Bantle et al., 2008). El grado de madurez y procesamiento de un alimento, el estilo de preparación, así como el ayuno o la ingestión de proteínas y grasas junto con carbohidratos, pueden modificar el efecto de un alimento en la glucosa sanguínea. Para su evaluación y control se utiliza el índice glicémico, el cual se define como el cambio en la glucosa sanguínea después de 2 h de haber ingerido una porción constante de un alimento que contiene una cantidad dada de carbohidratos (generalmente 50 g), en relación con la respuesta a un alimento de referencia (Sheard et al., 2004). Las alteraciones en este índice y el

contenido de fibra de los alimentos, inducen cambios pequeños pero significativos en el perfil glicémico.

Los carbohidratos son una de las principales fuentes de energía, fibra, vitaminas y minerales, y son importantes para la palatabilidad dietaria. Por lo tanto, no se pueden eliminar por completo; son componentes esenciales en la dieta de los individuos con DT1. La Asociación Americana de Diabetes (ADA) recomienda un tratamiento individualizado para cada niño, donde se siga un patrón dietario que incluya carbohidratos provenientes de frutas, vegetales, granos enteros, leguminosas y leche baja en grasa. Así también, recomiendan incluir alimentos que contengan fibra, bajo índice glicémico y monitorear los carbohidratos consumidos (ADA, 2015).

Se analizaron ocho estudios para evaluar diferentes variables de la composición de la dieta en niños con DT1 (Cadario et al., 2012, Enríquez-Leal et al., 2010, Katz et al., 2014, Maffeis et al., 2012, Marigliano et al., 2013, Papadaki et al., 2008, Sundberg et al., 2014, Virtanen et al., 2000). Todos se llevaron a cabo con niños mayores de 10 años, excepto tres (Enríquez-Leal et al., 2010, Sundberg et al., 2014, Virtanen et al., 2000). Además, Virtanen et al. (2000), dieron seguimiento a niños con DT1 desde el momento del diagnóstico y a los tres, doce y 24 meses siguientes. Se presentan los resultados del análisis de estos ocho estudios.

El Instituto de Medicina de los Estados Unidos (IOM, 2006) recomienda que entre el 45 a 65 % de la ingestión calórica en niños provenga de carbohidratos; por su parte, la Sociedad Internacional para la Diabetes Pediátrica y Adolescente (ISPAD, 2011) recomienda que su consumo sea del 50 al 55 %. En los estudios antes citados, analizaron el consumo de carbohidratos en niños con DT1; 7 de ellos ingirieron un porcentaje acorde al recomendado con valores entre 47% y 55.1% de la energía (Cadario et al., 2012, Enríquez-Leal et al., 2010, Katz et al., 2014, Maffeis et al., 2012, Marigliano et al., 2013, Sundberg et

al., 2014, Virtanen et al., 2000). En el estudio de niños sonorenses con DT1, más del 80% sobrepasaron la recomendación en cuanto a carbohidratos (Enríquez-Leal et al., 2010).

Por su parte, Maffeis et al. (2012) y Sundberg et al. (2014), compararon dicho consumo con el de niños sanos, y encontraron que es menor en los niños con DT1, aunque sólo en un estudio, la ingestión fue menor que la recomendación (44%) (Papadaki et al., 2008). Además, Virtanen et al. (2000), encontraron que la proporción de energía proveniente de carbohidratos disminuyó de 56% a los tres meses a 53.6% a los dos años de evolución. Esto indica que el consumo de carbohidratos de los niños con DT1 en control, coincide con el de la recomendación, con tendencia a ser menor que el de los niños sanos.

No solo es importante la cantidad de carbohidratos consumidos, también su procedencia. La ADA recomienda que provengan de frutas y granos integrales. En 3 estudios se analizó la fuente de carbohidratos dietarios. En un estudio de Italia se describió que los niños con DT1 entre 6 y 16 años, consumen mayor cantidad de frutas, vegetales y granos enteros diariamente, que los niños sanos, y que además, limitan el consumo de bebidas endulzadas (Maffeis et al., 2012). Un estudio en Suecia, de menores de 7 años demostró que el consumo de jugos de fruta era bajo en comparación con el de los niños sanos (Sundberg et al., 2014). En Finlandia, se analizó la fuente de carbohidratos dietarios en niños con DT1, y se encontró que la mayor parte proviene de los cereales y vegetales, y en menor proporción de lácteos y bebidas azucaradas (Virtanen et al., 2000). Esto sugiere que la ingestión de fibra de los niños con DT1 debería ser alta. Sin embargo, los estudios encontraron que el consumo de frutas y vegetales es bajo con respecto a la recomendación.

La recomendación del IOM (2006) para el consumo de fibra dietaria en niños sanos es de 25 g/día. En los ocho estudios que analizaron el consumo de fibra dietaria, los niños con DT1 consumieron menos que la recomendación (11.27 –

19 g/día). Sólo dos estudios compararon el consumo con niños sanos, y encontraron que los niños con DT1 consumían más fibra (Maffeis et al., 2012, Papadaki et al., 2008). Virtanen et al. (2000), publicaron que la ingestión de fibra cumplía con la recomendación, sin embargo, el consumo disminuyó a los dos años de evolución de la enfermedad.

De la información antes descrita, se puede inferir que los niños sanos no cumplen con la recomendación del IOM (2006) en cuanto al consumo de fibra. Existe evidencia sobre el consumo de una dieta alta en fibra en la reducción de la glucosa sanguínea en sujetos con DT1 (Bantle et al., 2008). Se ha relacionado este efecto positivo con la capacidad que tiene la fibra de retrasar el vaciamiento gástrico y el tránsito intestinal, además de aumentar la sensibilidad a la insulina (Silva et al., 2013). Así, un consumo de fibra mayor en los niños con DT1 que el de los niños sanos, podría ayudar a un mejor control glicémico en general.

Respecto al consumo de carbohidratos simples en niños con DT1, el ISPAD (2011) y la ADA (2015) recomiendan que forme parte de menos del 10% de la energía total consumida. Sólo en 3 artículos se analizó su consumo en niños con DT1, y todos coincidieron en que la ingestión fue mayor que la recomendación (11% a 15%) (Cadario et al., 2012, Maffeis et al., 2012, Papadaki et al., 2008). Además, Maffeis et al. (2012) y Papadaki et al. (2008), indicaron que el consumo de carbohidratos en niños con DT1 era menor que en los niños sanos. Esto podría revelar que los niños sanos tampoco cumplen con la recomendación, y que además los niños con DT1 disminuyen el consumo de azúcares simples, como medida de prevención de complicaciones. Sin embargo, Virtanen et al. (2000), encontraron que la proporción de energía proveniente de sacarosa se mantuvo estable en 3%, en los dos años de seguimiento.

La ADA indica que no es necesario restringir la ingestión de sacarosa de la dieta de niños con DT1. Esto, debido a que no se ha demostrado que cause mayor incremento en los niveles de glucosa sanguínea que la misma cantidad de almidón (Bantle et al., 2008). Se deben tener en cuenta los nutrimentos que se ingieren al consumir alimentos que contienen sacarosa, como la grasa, para evitar que esto aumente el consumo calórico total.

Grasa

En el tratamiento nutricional para individuos con DT1 se debe considerar también el consumo de grasa. Su ingestión combinada con carbohidratos es beneficiosa, al disminuir la absorción de glucosa e influir en los niveles de glucosa posprandial (Sheard et al., 2004). Sin embargo, es indispensable que al controlar el consumo de carbohidratos no se aumente la ingestión de grasa (Smart et al., 2009), debido al elevado riesgo de los niños con DT1 a las enfermedades cardiovasculares. Esto se logra siguiendo las recomendaciones nutricionales del IOM e ISPAD.

La recomendación del IOM (2006) e ISPAD (2011) para los niños en cuanto al consumo de grasas totales, es que aporten entre el 25 al 35% de las calorías consumidas. En siete de los estudios analizados, la ingestión de grasa en niños con DT1 era acorde a la recomendación (29.9% a 35%) (Cadario et al., 2012, Enríquez-Leal et al., 2010, Katz et al., 2014, Maffeis et al., 2012, Marigliano et al., 2013, Sundberg et al., 2014, Virtanen et al., 2000). Al compararlo con los niños sanos, en un estudio la ingestión de grasa de los niños con DT1 fue menor (Maffeis et al., 2012), y en otro fue mayor (Sundberg et al., 2014). Papadaki et al. (2008), encontraron que la ingestión de grasa en niños con DT1 excedía la recomendación (40%). En el estudio de Virtanen et al. (2000), la proporción de energía derivada de grasa aumentó de 26.1% a los 3 meses, a 29.7% a los dos años en los niños con DT1. La variación en los resultados en

general de los diversos estudios, puede deberse a que se realizaron en diferentes poblaciones, o al tipo de alimentación de la población estudiada.

El origen de las grasas consumidas por los pacientes con DT1, sólo fue descrito en un estudio. Virtanen et al. (2000), estudiaron la dieta de menores de 6 años con DT1 en Finlandia. Encontraron que las grasas consumidas en esta población provienen principalmente de margarina, mantequilla y aceites, productos lácteos y carne. Además, estas fuentes de grasa fueron distintas de las que utilizaron los niños sanos, en el mismo estudio. La mayoría de las fuentes de grasas consumidas por los niños con DT1 son de origen animal, lo que indica un posible aumento en el riesgo cardiovascular.

El objetivo principal del tratamiento nutricional en individuos con DT1, en cuanto al consumo de grasas, es limitar la ingestión de ácidos grasos saturados, ácidos grasos *trans* y colesterol. Esto, con el fin de reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Bantle et al., 2008). La recomendación de la ADA es que el consumo de grasas saturadas sea menor al 7% de las calorías totales consumidas, la ingestión de grasas *trans* mínima y menos de 200 mg diarios de colesterol.

Todos los estudios analizados publicaron que el consumo de grasas saturadas en los niños con DT1 es mayor al recomendado (9% a 15%). Maffeis et al. (2012), indicaron que fue menor que el de los niños sanos. Los niveles elevados de colesterol LDL en sangre son indicativos de riesgo cardiovascular, y las grasas saturadas y *trans* son las principales determinantes del colesterol LDL. Los individuos con DT1 tienen un elevado riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, comparado con la población general (Laing et al., 2003). En base a estos aspectos, el control en el consumo de grasa saturada en los niños con DT1, es de suma importancia.

Proteína

La ingestión de proteína en niños con DT1 puede influenciar los niveles de glucosa posprandial. La glucosa producida al ingerir proteínas, no eleva las concentraciones de glucosa plasmática. En cambio, los aminoácidos contenidos en los alimentos inducen un incremento en la liberación de insulina al ser ingeridos junto con carbohidratos, aumentando así, la eliminación de glucosa de la sangre (Sheard et al., 2004). Por ello, cumplir con su ingestión recomendada es de importancia para el control glicémico.

La recomendación de consumo del IOM (2006) para niños sanos sobre proteínas, es del 10% al 30% de la ingestión calórica total; por su parte el ISPAD (2011) recomienda consumir entre 15 y 20 % del consumo calórico total. Se indica el consumo de 1 a 0.8 g de proteína de buena calidad por kg de peso, por día para niños con DT1 (Bantle et al., 2008). En los 8 estudios analizados hubo consumo adecuado de proteínas de acuerdo a lo recomendado (11.71% a 18%). Dos estudios indicaron consumo mayor de proteína por parte de los niños con DT1, comparado con los niños sanos (Papadaki et al., 2008, Sundberg et al., 2014). En el estudio de Virtanen et al. (2000), los niños con DT1 disminuyeron el consumo de proteína de 14.91% a 11.71% después de dos años de diagnóstico. Estos hallazgos deberían evaluar también el tipo de proteína consumida y no sólo la cantidad, ya que de ello podría depender también el tipo de grasa consumida.

La ADA indica que el consumo de proteínas de los niños con DT1 debe provenir de fuentes de buena calidad, con alta Calificación de Aminoácidos Indispensables Digestibles y proveer todos los aminoácidos esenciales. Entre las fuentes de esta proteína, están la carne, el pollo, el pescado, el huevo, la leche, el queso y la soya. Por el contrario, los cereales, granos, nueces, vegetales y leguminosas, no cumplen estos requerimientos por si solos, pero sí en combinación (Bantle et al., 2008). La fuente de proteína ingerida por los

niños con DT1 ha sido analizada sólo en un estudio. Los niños italianos con DT1 entre 6 y 16 años, consumen pescado como mínimo 2 veces por semana, comparado con los niños sanos, que se encuentran por debajo de esta recomendación. Además, su leche, es baja en grasa (Maffeis et al., 2012). Podríamos inferir que la mayor parte del consumo de los niños con DT1 proviene de proteínas animales, ya que el consumo de grasa saturada se encuentra elevado, como la que proviene de alimentos de origen animal.

Índice glicémico

Aunque dos alimentos tengan la misma cantidad de carbohidratos, puede haber diferencias en el impacto glicémico de cada uno (Brand-Miller et al., 2003). El índice glicémico se desarrolló para comparar las respuestas posprandiales de cantidades constantes de diferentes alimentos que contienen carbohidratos (Bantle et al., 2008). La carga glicémica de una comida, se calcula multiplicando el índice glicémico de los alimentos que la constituyen por la cantidad de carbohidratos que contiene cada uno. Se clasifica como bajo cuando el valor es menor de 50, es moderado entre 50 y 100; y alto cuando es mayor a 100.

La ADA recomienda preferir los alimentos de bajo índice glicémico como el pan de trigo 100% integral, avena, cebada, maíz, camote, zanahoria, legumbres, lentejas, la mayoría de las frutas y verduras sin almidón (ADA, 2015). Además, algunos componentes de la dieta como la fibra, fructosa, lactosa y grasa tienden a disminuir la respuesta glicémica (Bantle et al., 2008). Así, una dieta con bajo índice glicémico mejora el control de glucosa en sangre al mismo nivel o mayor que los medicamentos hipoglucemiantes (Brand-Miller et al., 2003).

Un meta-análisis evaluó 14 estudios de intervención con una duración promedio de 10 semanas, y mostró una asociación positiva entre el control glicémico y el índice glicémico de la dieta de personas con diabetes. Además, ésta relación

fue independiente de la ingestión de calorías, proteína, grasa, carbohidratos y fibra (Brand-Miller et al., 2003).

Recientemente Queiroz et al. (2012), analizaron la dieta de niños brasileños con DT1 de más de un año de evolución. Encontraron que la mayoría consumen una dieta de índice glicémico de 68.5 % (moderado) y que el 73.6 % de los niños con buen control glicémico consumían una dieta de índice glicémico bajo. Así, los niños que llevan una dieta de menor índice glicémico, muestran mejor control en su hemoglobina glicosilada, comparado con aquellos de control moderado o bajo. Al igual que en Brasil, la mayor parte de los niños con DT1 de EU consumen también una dieta de índice glicémico moderado con un promedio de 59.8 %. Sin embargo, en esta población no se encontró relación entre el control glicémico o el IMC con el índice glicémico de la dieta consumida (Nansel et al., 2012).

Se ha relacionado el índice glicémico con una progresión más rápida a DT1 en niños con autoinmunidad, sin tener un efecto en la aparición de la enfermedad. Siendo posiblemente el mecanismo de acción el aumento de la demanda hacia las células β para liberar insulina (Lamb et al., 2008).

Dieta y Microbiota Intestinal

La dieta es el principal factor que modifica la composición de la microbiota intestinal, que se ve influenciada por la cantidad, el tipo y el equilibrio de los macronutrientes ingeridos (Scott et al., 2013). Además, existe una fuerte interacción entre la microbiota y el sistema inmune del hospedero, donde ambos producen compuestos que pueden influenciar al otro.

Macronutrientes y microbiota intestinal

Así como en los humanos, los carbohidratos son la principal fuente de energía para las bacterias intestinales, siendo la fibra el alimento preferido por los microorganismos. Muchos de sus beneficios a la salud son consecuencia de su fermentación y los metabolitos producidos. Entre otros, los ácidos grasos de cadena corta, que ayudan a disminuir el pH del colon. Esto, inhibe el crecimiento y actividad de bacterias patógenas, y por lo tanto, ayuda a mantener la integridad del epitelio intestinal. Los principales ácidos grasos de cadena corta producidos son acetato, propionato y butirato. El butirato ayuda a mantener la integridad de la mucosa intestinal, mientras que el acetato y propionato llegan al hígado y participan en la lipogénesis y gluconeogénesis, respectivamente (Hijova & Chmelarova, 2007). Así mismo, pueden llegar a circulación y participar en las funciones del sistema inmune, como la inflamación.

No todas las proteínas ingeridas pueden ser utilizadas por las bacterias intestinales, su disponibilidad depende de que sean digeridas por las enzimas del intestino delgado. Las proteínas dietarias son la principal fuente de nitrógeno para el crecimiento microbiano en el colon y son esenciales para asimilar los carbohidratos. Los sustratos que resultan de la fermentación de proteínas en el colon incluyen amoníaco, sulfato de hidronio y fenoles, productos que son citotóxicos, o carcinógenos (Lopez-Legarrea et al., 2014). Sin embargo, la mayor parte de estos compuestos son neutralizados y transportados para ser eliminados en heces o en orina.

Las dietas altas en grasa producen un aumento en los niveles de lipopolisacáridos en circulación, posiblemente debido a un aumento en la permeabilidad intestinal. Los lipopolisacáridos activan la respuesta inflamatoria del sistema inmune, y se encuentran ligados al desarrollo de enfermedades metabólicas (Moreira et al., 2012). Al tratar con antibiótico a ratones con

obesidad, los niveles de lipopolisacáridos disminuyen, por lo que se atribuye a la microbiota su producción (Cani et al., 2008). En humanos, la cantidad de grasa consumida se relaciona con la cantidad producida de ácidos biliares como el ácido deoxílico, que es secundario. Éste, posee capacidad antimicrobiana y podría participar en la modulación de la microbiota intestinal (Conlon & Bird, 2015).

Alimentación y microbiota

En los primeros años de vida, la microbiota intestinal de un niño es poco diversa y muy variable. El primer cambio en su composición relacionado a la alimentación, se atribuye al tipo de lactancia. En niños que son amamantados, predomina *Firmicutes*, mientras que en los que consumen fórmula láctea las bacterias dominantes son *Bacteroidetes*. Así, al introducir alimentos sólidos a la dieta de los niños, ambos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* se vuelven los filos dominantes. A los 3 años de edad es cuando se empieza a contemplar mayor diversidad y abundancia de la microbiota, cuando se establecen los patrones de alimentación (Voreades et al., 2014).

Los primeros hallazgos sobre la relación de la dieta con la microbiota intestinal fueron realizados por De Filippo et al. (2010), quienes compararon la microbiota intestinal de niños de África con la de niños de Europa, ambos grupos con edades de 1 a 6 años. Encontraron que, la composición de la microbiota era diferente entre los dos grupos, y que además tenía una estrecha relación con la dieta típica del lugar de origen. La mayoría de los estudios realizados sobre dieta y microbiota intestinal se han llevado a cabo en poblaciones occidentalizadas. El consumo dietario occidental es denso en energía, proteína animal, grasa total, saturada y carbohidratos simples, así como bajas en frutas, verduras y leguminosas, por lo que son dietas con poco aporte de fibra.

En el estudio de Mejía-León et al. (2014), cerca del 50 % de la composición de la microbiota intestinal de los niños sanos sonorenses, se encuentra compuesta por el género Bacteroidetes, con predominancia de *Prevotella* sobre *Bacteroides*. Por su parte, Wu et al. (2011), analizaron la composición de la dieta y su relación con los enterotipos de la microbiota intestinal en individuos sanos de EU entre 2 y 40 años de edad. Encontraron que sólo los patrones dietarios a largo plazo se correlacionaban con el enterotipo del individuo. *Bacteroides* correlacionó positivamente con el consumo de grasas y aminoácidos, y negativamente con carbohidratos y fibra. Mientras que el enterotipo *Prevotella* mostró una correlación negativa con grasas, aminoácidos y fibra, y positiva con carbohidratos.

Nakayama et al. (2015), analizaron la microbiota de escolares sanos de Asia, encontraron diferencias en cuanto a la zona geográfica y el tipo de alimento predominante. En el análisis metagenómico que realizaron, *Prevotella* se relacionó con mayor actividad de digestión de carbohidratos, y *Bacteroides* con mayor actividad de síntesis de ácidos biliares, lo que se relaciona con las dietas altas en almidón que tienen los niños asiáticos. Así, la composición de la microbiota intestinal de los niños en edad escolar tiene relación con su dieta.

HIPÓTESIS

La proporción de *Bacteroides* en la microbiota fecal de escolares sonorenses con DT1, se reducirá en la medida en que el consumo de nutrientes se apegue a las recomendaciones, durante la evolución de la enfermedad.

OBJETIVOS

General

Evaluar la acumulación de *Bacteroides* en la microbiota fecal de escolares sonorenses con DT1, y el consumo de nutrientes, a lo largo de 6 meses de evolución de la enfermedad.

Particulares

Evaluar el consumo dietario de escolares sonorenses con DT1, en tres periodos de la enfermedad, mediante recordatorios de 24 horas.

Cuantificar la proporción de *Bacteroides* en ADNg fecal en tres periodos, mediante PCR en tiempo real, con iniciadores prediseñados.

Buscar la asociación entre la concentración de *Bacteroides* y el consumo de nutrientes, en tres períodos de la patología, mediante análisis de regresión lineal múltiple.

SUJETOS Y MÉTODOS

Se trata de un estudio de cohorte con duración de 6 meses, dividido en 3 visitas (0, 3 y 6 meses). Se invitó a participar a niños sonorenses entre 6 y 14 años, y se formaron dos grupos de estudio, uno de 21 niños con DT1 y otro de 6 sanos, teniendo una muestra total de 27 niños. El grupo de expuestos se conformó por niños con diagnóstico de DT1, realizado por dos médicos endocrinólogos en el Hospital Infantil del Estado de Sonora y en el Instituto Mexicano del Seguro Social. El grupo de no expuestos fueron niños sanos, de escuelas primarias de la ciudad de Hermosillo, Sonora.

Se les informó a los padres sobre las características del estudio, y se les solicitó firmar una carta de consentimiento informado para la participación de sus hijos. Se solicitaron datos personales y se aplicó un cuestionario sobre la historia clínica de los niños, diseñado por Valencia-Tapia (2015), donde se incluyen preguntas cerradas sobre antecedentes heredo-familiares (enfermedades presentes en la familia), antecedentes personales no patológicos (perinatales, alimentación en el primer año de vida, inmunizaciones y antecedentes personales patológicos). De este cuestionario se obtuvo información sobre enfermedades padecidas, tiempo transcurrido desde el diagnóstico de la DT1 y uso de antibióticos. Además, del expediente se obtuvo el porcentaje de hemoglobina glicosilada en sangre (HbA1c) más reciente en cada visita.

Se excluyeron todos aquellos niños que decidieran no firmar la carta de consentimiento informado, que fueran menores de 6 o mayores de 14 años, que presentaran enfermedades gastrointestinales y que se les hubiera administrado

antibiótico en los últimos tres meses. El protocolo fue revisado y aprobado por el comité de ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CE/016A/2014).

Evaluación Dietética

En cada visita (0, 3 y 6 meses), se aplicó un recordatorio de 24 horas utilizando las técnicas establecidas por Leachting 1976 y Linusson 1947 (Thompson & Subar, 2001), por duplicado a cada participante, para conocer el consumo dietario promedio en ese periodo. Para estimar las porciones consumidas, se utilizaron modelos auxiliares de alimentos y utensilios de cocina. La información obtenida se analizó mediante el método desarrollado por Ortega Vélez et al. (1999), tablas de composición nutrimental del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (2014) y del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán (1980), así como de los alimentos típicos de la región. Se obtuvieron los promedios de consumo de cada nutriente y se compararon con las recomendaciones actuales del Instituto de Medicina de los Estados Unidos (IOM, 2006) y de la Sociedad Internacional para la Diabetes Pediátrica y Adolescente (ISPAD, 2011), ya que no existen recomendaciones específicas para la población mexicana.

Se determinaron los alimentos más consumidos por los niños del estudio en base al número de ocasiones que lo consumieron en las tres visitas. La presencia de cada alimento diferente en la dieta se consideró una sola vez por cada día. Se calcularon los números de porciones consumidas al día en base al Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes (Pérez Lizaur et al., 2014).

Evaluación Antropométrica

En cada etapa del estudio se midió el peso a los participantes con una balanza electrónica digital AND® modelo FG-150K, con capacidad de 0 a 150 kg, y la talla con un estadiómetro portátil Seca® modelo 214. Los participantes se encontraban en posición anatómica, con la menor cantidad de ropa posible, sin zapatos, con los talones juntos y puntas separadas y la cabeza colocada en el plano de Frankfurt. Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa Anthro plus (WHO, 2009), para calcular el puntaje Z para los diversos indicadores del estado nutricional: talla para la edad, peso para la edad e índice de masa corporal para la edad. Estos puntajes se clasificaron siguiendo las recomendaciones de la WHO (1995), como emaciación (percentil ≤ 15 ; ≥ -1 DE), peso normal (percentil 50; ≥ -1 y $\leq +1$ DE) sobrepeso (percentil 85; $> +1$ y $\leq +2$ DE) y obesidad (percentil ≥ 95 ; $> +3$ DE).

Toma de Muestras

Se tomaron muestras de sangre periférica de los participantes durante el estudio. Al inicio del estudio se colectaron ~2 mL de sangre periférica en tubos de plástico con EDTA, y ~2 mL en tubos con gel para separación de suero, previamente etiquetados. Todos se transportaron a 4°C al laboratorio.

Se colectaron muestras de heces en las tres sesiones: al inicio y a los 3 y 6 meses del estudio. Éstas, se colocaron en vasos de plástico, los cuales se colocaron en hielo para su transporte inmediato al laboratorio, donde se conservaron a -70°C para su posterior análisis.

Análisis de Auto-anticuerpos

De las muestras de sangre recolectadas, se separó el suero para cuantificar los auto-anticuerpos contra Glutamato-descarboxilasa (GAD) y tirosina fosfatasa pancreática (IA2) mediante ensayo por inmuno-absorción ligado a enzimas (ELISA), utilizando el juego de reactivos comercial GAD/IA-2 Auto-antibody Screen (KRONUS®).

Extracción de ADN genómico

A las muestras de sangre total y de heces recolectadas se les hizo extracción de ADN genómico (ADNg). En las muestras de sangre, la extracción se realizó mediante el juego de reactivos comercial QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN®), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras de heces se congelaron a -70° y se utilizó el juego de reactivos comercial QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN®) para realizar la extracción. Se evaluó la concentración y pureza de los extractos obtenidos, mediante la relación de la absorbancia 260:280 en un espectrofotómetro Nanodrop®. Se consideró que la muestra de ADNg era pura cuando se obtuvo una relación de 1.8 - 2.0, según lo indicado en el kit. El ADN extraído se almacenó a -20°C.

Tipificación de Haplotipos

La tipificación de haplotipos HLA-DQ2 y DQ8, se realizó mediante reacciones duplex en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, en un termociclador StepOnePlus™ (Applied Biosystems, Waltham, MA, EU). Se utilizaron iniciadores de secuencia específica para los alelos DQA1*0501, DQB1*0201, DQA1*0301 y DQB1*0302/3 prediseñados por Olerup et al. (1993), mostrados en el Tabla 1.

Tabla 1. Iniciadores específicos de alelos de HLA para las reacciones de PCR

Iniciador	Secuencia	Dirección	Tamaño	Haplotipo
DQA1 *0501	5'ACGGTCCCTCTGGCCAGTA3' 5'AGTTGGAGCGTTTAATCAGAC3'	Sentido Antisentido	186 pb	HLA -DQ2
DQB1 *0201	5'GTGCTCTTGTGAGCAGAAG3' 5'GCAAGGTCGTGCGGAGCT3'	Sentido Antisentido	205 pb	
DQA1 *0301	5'TTCACTCGTCAGCTGACCAT3' 5'CAAATTGCGGGTCAAATCTTCT3'	Sentido Antisentido	183 pb	HLA -DQ8
DQB1 *0302/3	5'GACGGAGCGCGTGCGTTA3' 5'AGTACTCGGCGTCAGGCG3'	Sentido Antisentido	122 pb	

Adaptado de Olerup et al. (1993)

De acuerdo al procedimiento de Aguayo-Patrón y Calderón de la Barca (2015), las reacciones de amplificación se prepararon con 12.5 µL de SYBR® Green Mix (Life Technologies, EU), 5 µM de cada iniciador de secuencia específica, ~800 ng de ADN templado de cada sujeto de estudio, y se agregó agua para completar 25 µL. Se realizó una elevación inicial de temperatura a 95°C por 7 min, seguida de 35 ciclos de 95 °C por 30 s, 61 °C por 30 s y 72 °C por 30 s. Al finalizar se realizó la curva de disociación con incrementos de 1 °C. Para identificar los alelos específicos amplificados, se utilizaron los picos de temperatura de fusión (T_m).

Análisis de Microbiota

El análisis de la microbiota se realizó mediante la amplificación de la región V4 del gen bacteriano 16S ARNr con el protocolo de curva estándar por PCR en tiempo real en un termociclador StepOnePlus™ (Applied Biosystems, Waltham, MA, EU). Se utilizó ADN de un cultivo puro de *Bacteroides spp.*, extraído con el DNA Mini Kit (QUIAGEN, Hilden, Alemania), para realizar diluciones seriadas

1:10. La cuantificación se realizó empleando los iniciadores de secuencia específica para *Bacteroides* (BacDF (AAGGTCCCCCACATTGG) (Manz et al., 1996); BacDR (GAGCCGCAAACCTTTACAAA) (Franks et al., 1998)) y bacterias totales (27F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG); 1492R (TACGGCACCTTGTTACGACTT) (Frank et al., 2008)). La precisión de los iniciadores utilizados para el género *Bacteroides*, se verificó *in silico* con la herramienta “probe match” del Ribosomal Database Project, versión 11 (Cole et al., 2005).

La cuantificación se realizó por duplicado, las reacciones de amplificación se prepararon con 12.5 µL de SYBR® Green Mix (Life Technologies, EU), 5 µM de cada iniciador de secuencia específica, ~10 ng de ADN templado de cada sujeto de estudio, y se agregó agua mili-Q estéril para completar 20 µL. Para cuantificar bacterias totales se realizó una elevación inicial de la temperatura a 95 °C por 5 min, seguida de 35 ciclos de 94 °C por 1 min, 50 °C por 1 min y 72 °C por 1 min, para cada ciclo. La cuantificación de *Bacteroides* se inició elevando la temperatura a 95 °C por 10 min, seguida de 35 ciclos de 95 °C por 15 seg, 58 °C por 30 seg y 72 °C por 30 seg, para cada ciclo. La proporción de *Bacteroides* en cada muestra se calculó con los datos obtenidos de las curvas estándar para bacterias totales y *Bacteroides*.

Análisis Estadístico

Se realizó estadística descriptiva para analizar el consumo dietario promedio, por nutriente, de acuerdo al tiempo de evolución de la enfermedad; así como para caracterizar a la población con las variables de edad, peso, talla, índice de masa corporal (IMC), presencia o ausencia de auto-anticuerpos y porcentaje de hemoglobina glicosilada. Así mismo, se realizó un análisis de varianza de una vía para evaluar las diferencias de estas variables entre tres grupos (niños sanos, niños con DT1 < 1 año y niños con DT1 > 1 año de evolución).

Se realizó un análisis de varianza con mediciones repetidas para buscar diferencias en cuanto a la cantidad de *Bacteroides* y el consumo de energía proveniente de los diferentes macronutrientes, en tres diferentes tiempos de desarrollo de la enfermedad (0 a 3 meses, 4 a 6 meses y 7 a 12 meses). Así mismo, los cambios en el tiempo de estas variables se compararon entre niños expuestos y no expuestos, utilizando la prueba t de Student para muestras independientes o en su caso la prueba no paramétrica de Mann Whitney.

Para asociar *Bacteroides* con nutrientes consumidos, se hizo análisis de regresión lineal múltiple, agrupando a los sujetos de acuerdo al tiempo de evolución de la DT1. La variable dependiente (continua) fue la acumulación de *Bacteroides* y las variables independientes fueron los gramos ingeridos y el porcentaje de energía proveniente de carbohidratos, azúcares simples, fibra, proteína, grasas totales, grasas saturadas y el consumo energético total.

Se probaron los supuestos de la regresión lineal como linealidad, normalidad de los residuos, autocorrelación de errores y homocedasticidad. Para cada variable independiente de interés se utilizó un modelo, de tal manera que se tuvieron un total de doce modelos de regresión diferentes. Utilizando el método Stepwise se utilizaron como variables de ajuste el sexo y la etapa de la enfermedad (diagnóstico reciente o larga evolución), como variables categóricas, y como variables continuas el tiempo de evolución de la DT1, el puntaje Z de IMC, la edad, el porcentaje de hemoglobina glicosilada de los niños, el consumo de nutrientes y el consumo energético total. El análisis se realizó mediante el paquete estadístico Stata versión 13, considerando una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de la Muestra

El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Hermosillo, Sonora, con niños atendidos en el Hospital del Instituto Mexicano del Seguro Social de zona 14 y en el Hospital Infantil del Estado de Sonora. En este último, el 88% de los padres y abuelos de los niños atendidos, son originarios del noroeste del país (Calderón de la Barca & Valencia-Tapia, 2013). Así mismo, todos los padres y niños participantes fueron del estado de Sonora. Participaron 21 niños con diagnóstico de DT1 entre 8 y 14 años de edad, de los cuales 10 son de diagnóstico reciente y 11 de larga evolución; se incluyeron también 6 niños sanos en el estudio. En la Tabla 2 se muestran las características de los niños participantes en el estudio, con los DT1 agrupados por tiempo de evolución. Los valores son similares para edad, sexo, peso, talla e IMC en los tres grupos.

Los tres grupos de estudio tienen promedios similares de IMC, indicando un peso normal, aunque con un rango de variación diferente. En la Figura 1 se presenta la clasificación de este puntaje, según los indicadores de crecimiento de la OMS (2007). El grupo de niños de larga evolución es más homogéneo, similar al de niños sanos. Sólo dos niños en cada grupo mostraron algún nivel de sobrepeso.

Tabla 2. Características descriptivas de los niños participantes

	Niños sanos n = 6	Niños con DT1 <1 año n = 10	Niños con DT1 >1 año n = 11	Valor-p
Edad (años)	11.04 ± 2.71	11.73 ± 1.94	12.07 ± 1.76	0.59 *
Género (niñas : niños)	3 : 3	7 : 3	8 : 3	0.56 *
Peso (kg)	36.86 ± 11.37	44.11 ± 14.03	41.78 ± 8.37	0.72 *
Talla (cm)	144.33 ± 18.26	150.63 ± 11.36	150.82 ± 13.26	0.72 *
IMC (Puntaje Z)	0.03 ± 1.37 (-1.2 – 1.51)	0.09 ± 1.44 (-2.68 – 2.67)	-0.15 ± 0.96 (-1.65 – 1.55)	0.74 †
Evolución de DT1 (años)	-	0.33 ± 0.27	3.37 ± 1.87	< 0.00 ◻
HbA1c (%)	-	10.46 ± 2.76 (4.7 – 15.28)	10.61 ± 3.12 (5.3 – 17.5)	0.95 ◻

Se muestran las medias ± su desviación estándar (rango)

*Prueba de Kruskal-Wallis p<0.05

*Prueba de Chi cuadrada p<0.05

†ANOVA de una vía p<0.05

◻Prueba de T-student para dos muestras independientes p<0.05

Se mostró amplia variabilidad en el grupo de diagnóstico reciente, donde 1 niño presentó emaciación, lo cual indica un grado moderado de desnutrición. En la historia clínica aplicada, todos los niños de este grupo presentaron pérdida súbita de peso meses antes del diagnóstico. La pérdida de peso fue entre 3 a 5 kg, sin embargo el niño con emaciación, perdió 10 kg. En esta misma población, Enríquez-Leal et al. (2010), encontró bajo peso en el 3% de los niños con DT1. La pérdida de peso previa al diagnóstico, como respuesta a un inadecuado metabolismo de carbohidratos y agotamiento de la reserva energética de grasa y proteína, es uno de los síntomas comunes de DT1 (ADA, 2014a).

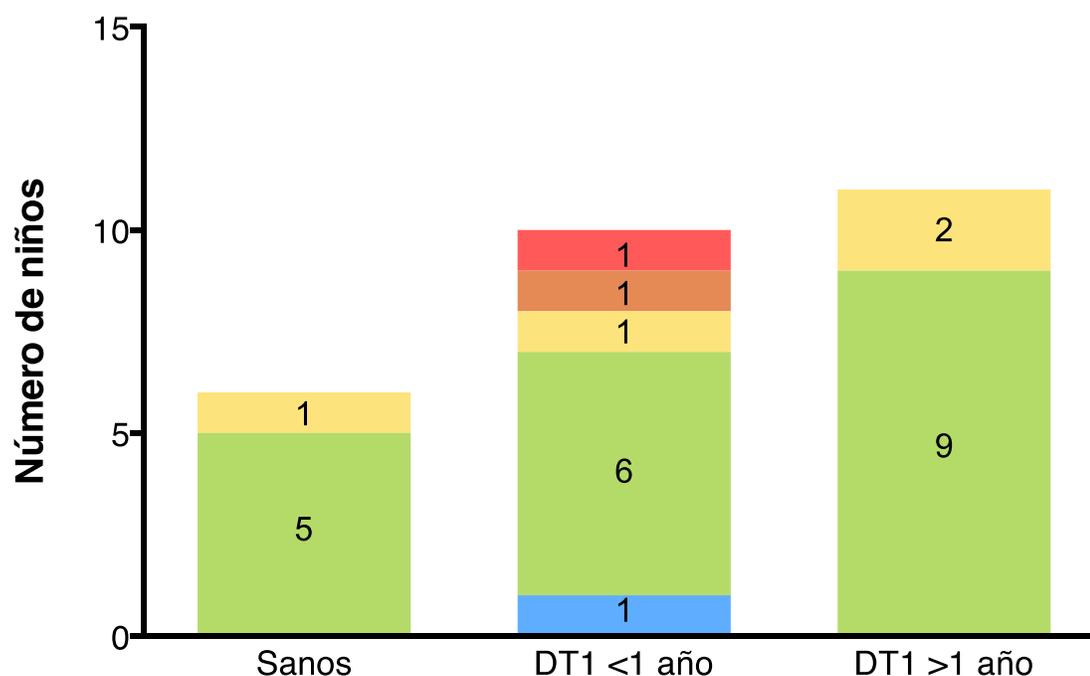


Figura 1. Estado antropométrico de los niños sanos y con DT1, de acuerdo al Puntaje Z de IMC para la edad (WHO, 1995). ■ Sobrepeso, ■ Riesgo de sobrepeso, ■ Posible riesgo de sobrepeso, ■ Peso normal, ■ Emaciación.

En el grupo de niños de diagnóstico reciente se presentan 3 niños con sobrepeso o riesgo de sobrepeso, similar al 28% encontrado en un estudio previo de la misma población (Enríquez-Leal et al., 2010). Estos niños, posiblemente alcancen su peso normal después de algunos meses de tratamiento, modificando la alimentación.

No se presentaron diferencias en los dos grupos de DT1 en el porcentaje promedio de hemoglobina glicosilada, ambos sobrepasan el 7.5 % que recomienda la ADA (2015), para el control de la enfermedad. Esto es de esperarse en los niños de diagnóstico reciente, ya que es uno de los criterios para diagnosticar DT1, y además se encuentran aún en aprendizaje para el control de la enfermedad. En los niños de larga evolución se esperaría un mejor apego a la recomendación, lo que indicaría un buen control de la enfermedad.

El 18.1 % de los niños de diagnóstico reciente cumplió con la recomendación de la ADA en las tres visitas realizadas, y sólo el 11.5 % de los niños con DT1 de larga evolución cumple este requerimiento.

Los porcentajes de niños con hemoglobina glicosilada arriba de la recomendación, son menores a los encontrados por Wood et al. (2013), quienes notaron un apego a las recomendaciones, del 21% en niños de EU entre 6 y 13 años, con DT1 de más de un año de evolución. Así mismo, el promedio de hemoglobina glicosilada es mayor al encontrado en un estudio previo de niños sonorenses con DT1, con diversos periodos de evolución (Enríquez-Leal et al., 2010). El que los niños con DT1 de diagnóstico reciente se apeguen mejor a la recomendación se debe a que los padres prestan mayor atención a las recomendaciones para el control de la glicemia, evitando así las complicaciones súbitas.

Al inicio de este estudio la recomendación de hemoglobina glicosilada de la ADA (2014b) para el control de la diabetes era de 8%. Con este criterio, el apego a la recomendación de los niños de larga evolución sería del 19.2 %, similar al de los niños del estudio estadounidense, antes citado. Este valor es solo una guía para el manejo de la enfermedad, ya que la ADA también indica que los objetivos deben ser individualizados para cada niño.

En el presente estudio, se analizaron autoanticuerpos a todos los niños con DT1, como parte de la caracterización de participantes y apoyo para el diagnóstico médico. El 84.2 % de los niños con DT1 resultaron positivos para IA-2, y además 89.4 % fueron también positivos para GAD. Esto es de esperarse, ya que son autoanticuerpos que pueden detectarse incluso años después del diagnóstico de la DT1, con 70 % de probabilidad (Borg et al., 2000).

Tipificación de Haplotipos

La combinación de haplotipos encontrada en mayor proporción en los niños con DT1 fue la de DQ2 + DQA*0301 en el 38 %, seguida por DQ8 + DQB1*0201 en el 19 %. Al analizar estas combinaciones en el gradiente de riesgo genético de sonorenses (Mejía-León et al., 2015), coinciden en que son las de mayor riesgo genético para el desarrollo de DT1. Además se encontraron ambos haplotipos DQ2 y DQ8 por sí solos, en 4.7% de los niños. Se encontró también en el 14.3 % de los niños, la combinación de DQA1*0501 + DQA1*0301, 14.3 % para el haplotipo DQ2 y 9.5 % para el alelo DQA1*0301, los cuales indican riesgo moderado en el mismo gradiente antes referido. Así, todos los niños con DT1 de este estudio, tenían predisposición genética a sufrir esta enfermedad autoinmune.

Análisis Dietético

Una vez diagnosticados los niños con DT1 modifican su dieta, ya que prestan mayor atención a los alimentos que consumen como medida para controlar la glicemia sanguínea. En la Tabla 3 se muestra el consumo diario promedio de nutrientes del grupo de niños sanos y de los niños con DT1. En la última columna, se anotan las recomendaciones actuales del Instituto de Medicina de los Estados Unidos (IOM, 2006) y de la Sociedad Internacional para la Diabetes Pediátrica y Adolescente (ISPAD, 2011), a fin de mostrar la adecuación de la dieta de los niños en estudio. Los datos corresponden a los niños agrupados como sanos, con DT1 de diagnóstico reciente y con DT1 de larga evolución.

Tabla 3. Consumo diario promedio de nutrientes de los niños sanos y con DT1, comparado con las recomendaciones del IOM e ISPAD

	Niños Sanos n = 6	Niños con DT1 <1 año n=10	Niños con DT1 >1 año n=11	Valor-p	IOM (2006)	ISPAD (2011)
Energía (kcal/día)	1739.34 ± 563.25	1884.44 ± 626.39	1551.47 ± 525.76	0.08 *		
Hombres	1972.80 ± 471.87	2081.53 ± 638.43	1754.20 ± 667.78	0.54 *	1800	
Mujeres	1505.89 ± 673.94	1785.90 ± 612.48	1472.15 ± 451.62	0.16 *	1600	
Proteína (g/día)	64.88 ± 28.93	74.25 ± 23.52	69.40 ± 22.80	0.57 *	34 †	
Proteína (% E)	13.97 ± 2.99 ^a	16.21 ± 4.01 ^a	18.59 ± 3.63 ^b	0.006 *	10 - 30	15 - 20
Grasa total (g/día)	78.05 ± 41.93	71.19 ± 30.83	61.55 ± 24.66	0.28 *		
Grasa total (% E)	34.76 ± 8.60	33.64 ± 8.19	35.45 ± 7.37	0.66 *	25 - 35	25 - 35
Grasa saturada (g/día)	26.03 ± 10.51	24.90 ± 12.77	21.73 ± 10.52	0.37 [□]		
Grasa saturada (% E)	11.86 ± 2.64	11.74 ± 3.29	12.37 ± 3.63	0.75 *	< 10	< 10

(cont) Tabla 3. Consumo diario promedio de nutrientes de los niños sanos y con DT1, comparado con las recomendaciones del IOM e ISPAD

	Niños Sanos n = 6	Niños con DT1 <1 año n = 10	Niños con DT1 >1 año n = 11	Valor-p*	IOM (2006)	ISPAD (2011)
Carbohidratos totales (g/día)	237.62 ± 91.03 ^a	226.95 ± 83.71 ^{ab}	180.74 ± 81.77 ^b	0.01 □	130 [†]	
Carbohidratos totales (% E)	52.71 ± 9.01	50.14 ± 9.90	45.94 ± 7.26	0.07 *	45 - 65	50 - 55
Carbohidratos simples (g/día)	70.08 ± 41.82	46.90 ± 27.56	41.56 ± 18.24	0.24 □		
Carbohidratos simples (% E)	17.26 ± 12.23	9.62 ± 4.16	11.37 ± 4.99	0.14 □		<10
Fibra (g/día)	19.52 ± 9.15	25.94 ± 11.35	23.14 ± 9.92	0.36 □	25	
Hombres	19.67 ± 6.06	26.81 ± 16.06	28.06 ± 11.93	0.62 □	31 [†]	
Mujeres	19.37 ± 13.14	25.50 ± 8.58	21.22 ± 8.55	0.25 □	26 [†]	

kcal/día: kilocalorías al día. % E: porcentaje de la energía total consumida. g/día: gramos al día. Se presentan las medias ± su desviación estándar. ^{ab} Literales diferentes indican diferencias significativas. * ANOVA de una vía p < 0.05. □ Kruskal-Wallis p < 0.05. † Prueba de T-student para una muestra p < 0.05

Se presentaron diferencias en el consumo dietario de los niños sanos con respecto a los grupos de niños con DT1, en cuanto al aporte de proteína a la energía total consumida y el consumo de carbohidratos totales (g/día). El aporte a la energía por parte de la proteína ingerida tanto por los niños sanos, como por los DT1 de diagnóstico reciente, fue significativamente menor ($p = 0.006$), que el de los DT1 de larga evolución. Este aumento en el aporte de proteína a la energía, es el reflejo de las diferencias en el consumo de carbohidratos totales. Así, en los niños con DT1 de larga evolución, disminuyó significativamente ($p = 0.01$) el consumo promedio de carbohidratos, respecto a lo que consumían los niños sanos. El consumo de nutrientes de los niños con DT1 de larga evolución se mantuvo sin diferencias significativas a través del tiempo.

Después del diagnóstico, los niños con DT1 disminuyeron la aportación de los carbohidratos, compensando con un aumento en el porcentaje de energía consumida proveniente de proteína, a pesar de que su consumo absoluto (g/día) no cambió. Aunque el aporte de energía proveniente de proteína, se encuentra dentro de los rangos recomendados por el IOM e ISPAD, se dio un mayor consumo absoluto de proteína (g/día) en todos los grupos. Esta modificación en la dieta debida a autoinmunidad ligada a DT1, es común a la publicada en otro estudio (Weber et al., 2014).

El consumo energético fue similar en los niños con DT1 y en los niños sanos, además ambos cumplen la recomendación del IOM según el sexo y la edad. Estos resultados coinciden con los de un grupo de niños con DT1 de larga evolución en EU, que consumieron las mismas calorías comparado con niños sanos, y ambos grupos tenían un consumo adecuado para su edad (Mehta et al., 2014). Al contrario, en un estudio en Baréin, los niños con DT1 de recién diagnóstico, consumían más calorías que los sanos (Al-Haddad et al., 2015).

No se observaron otros cambios significativos en el consumo de los demás nutrientes, debido a la variabilidad en el grupo de niños con DT1 de reciente diagnóstico. En éste, se incluyen niños captados desde días después del diagnóstico y que aún no habían realizado cambios en su alimentación, así como niños con varios meses de diagnóstico, quienes ya habían realizado cambios. Previendo esto, se dio seguimiento a los niños de diagnóstico reciente, durante 6 meses; a lo largo de este tiempo, se unieron también niños con DT1, con menos de un año de evolución, captados en diferentes periodos. Así, para el análisis dietético, se agruparon en 4 subgrupos: a) niños con DT1 al diagnóstico, sin cambios en su alimentación, b) niños con DT1 de menos de 3 meses de evolución, c) niños con DT1 de 4 a 6 meses de evolución y d) niños con DT1 de 7 a 12 meses de evolución, con cambios en su alimentación.

En la Tabla 4 se muestra el consumo diario promedio de nutrientes de los niños con DT1 de menos de un año de evolución, además del porcentaje de hemoglobina glicosilada promedio. Debido a que los niños fueron captados en diferentes tiempos de evolución de la DT1, el tamaño de muestra varía.

Como era de esperarse, varios nutrientes se modifican después del diagnóstico de la DT1, conforme los niños van ajustando una dieta más saludable. Así, el consumo calórico va disminuyendo después de 3, 6 y 12 meses de evolución ($p = 0.001$), acercándose a la recomendación. A pesar de que el consumo de proteína (g/día) se mantiene estable, su porcentaje de aporte a la energía es menor al diagnóstico y aumenta después de 3 meses, siendo mayor a los 12 meses de evolución ($p = 0.00002$), equiparable al de los niños de larga evolución.

Tabla 4. Consumo diario promedio de nutrientes y valor de hemoglobina glicosilada de los niños con DT1 de menos de un año de evolución, comparado con las recomendaciones del IOM e ISPAD

	DT1 al diagnóstico n = 5	DT1 < 3 meses n = 9	DT1 < 6 meses n = 6	DT1 < 12 meses n = 8	Valor-p	IOM (2006)	ISPAD (2011)
Energía (kcal/día)	2672.08 ± 550.57 ^a	1794.65 ± 456.68 ^b	1594.59 ± 373.30 ^b	1513.66 ± 409.78 ^b	0.001 *		
Hombres	2991.19 ± 186.78 ^a	1867.58 ± 684.97 ^b	1939.99 ± 73.63 ^b	1741.29 ± 332.99 ^b	0.002 *	1800 [†]	
Mujeres	2544.43 ± 612.11 ^a	1736.30 ± 235.91 ^b	1421.9 ± 333.39 ^b	1437.78 ± 430.44 ^b	0.002 *	1600 [†]	
Proteína (g/día)	82.29 ± 23.78	71.08 ± 18.65	74.71 ± 26.10	70.43 ± 28.79	0.74 *	34 [†]	
Proteína (% E)	11.59 ± 3.12 ^a	16.08 ± 1.97 ^b	18.42 ± 3.41 ^{bc}	18.74 ± 3.59 ^c	0.00002 *	10 - 30	15 - 20
Grasa total (g/día)	98.82 ± 30.62 ^a	73.95 ± 24.30 ^{ab}	55.42 ± 25.75 ^b	55.72 ± 26.94 ^b	0.01 *		
Grasa total (% E)	33.63 ± 8.23	37.54 ± 7.04	30.22 ± 9.82	31.83 ± 7.83	0.46 *	25 - 35	25 - 35
Grasa saturada (g/día)	39.99 ± 13.33 ^a	23.07 ± 6.23 ^b	15.92 ± 7.95 ^b	20.48 ± 10.52 ^b	0.002 □		
Grasa saturada (% E)	13.93 ± 2.65 ^a	12.04 ± 2.28 ^{ab}	8.7 ± 3.19 ^b	11.75 ± 3.58 ^{ab}	0.03 *	< 10	< 10

(cont) Tabla 4. Consumo diario promedio de nutrientes y valor de hemoglobina glicosilada de los niños con DT1 de menos de un año de evolución, comparado con las recomendaciones del IOM e ISPAD

	DT1 al diagnóstico n = 7	DT1 < 3 meses n = 9	DT1 < 6 meses n = 6	DT1 < 12 meses n = 8	Valor-p	IOM (2006)	ISPAD (2011)
Carbohidratos totales (g/día)	333.55 ± 103.84 ^a	201.95 ± 45.48 ^b	199.22 ± 37.64 ^b	182.58 ± 36.56 ^b	0.01 [□]	130 [†]	
Carbohidratos totales (% E)	54.76 ± 11.15	46.37 ± 7.31	51.35 ± 10.97	49.42 ± 10.54	0.30 [*]	45 - 65	50 - 55
Carbohidratos simples (g/día)	65.82 ± 42.89	38.45 ± 17.17	40.51 ± 20.53	44.65 ± 21.03	0.37 [□]		
Carbohidratos simples (% E)	9.27 ± 5.20	7.77 ± 2.88	10.42 ± 5.00	11.42 ± 3.54	0.44 [□]		<10
Fibra (g/día)	24.09 ± 9.45	25.57 ± 8.37	26.48 ± 7.54	27.55 ± 18.15	0.56 [□]	25 [†]	
Hombres	21.58 ± 5.16	21.28 ± 7.27	28.67 ± 13.39	41.28 ± 36.82	0.58 [□]	31 [†]	
Mujeres	25.10 ± 11.09	29.01 ± 8.21	25.39 ± 5.49	22.97 ± 9.47	0.58 [□]	26 [†]	
HbA1c (%)	12.80 ± 2.01 (9.93 – 14.2)	11.01 ± 2.68 (7.2 – 15.28)	8.08 ± 2.45 (4.7 – 10.55)	9.87 ± 2.52 (6.1 – 12.7)	0.08 [*]		

kcal/día: kilocalorías al día. % E: porcentaje de la energía total consumida. g/día: gramos al día. Se muestran las medias ± su desviación estándar (rango). ^{ab} Literales diferentes indican diferencias significativas. ^{*} ANOVA de mediciones repetidas p < 0.05. [□] Friedman p < 0.05. [†] Prueba de T-student para una muestra p < 0.05.

El consumo de grasa total, mayor al diagnóstico, disminuye después de 3 meses de evolución ($p = 0.01$), la grasa saturada es la que proporciona este efecto, siendo su consumo también mayor al diagnóstico, tanto en gramos ($p = 0.002$), como en el porcentaje que aporta a la dieta (0.03). Sin embargo, se observa una tendencia del porcentaje de grasa saturada a aumentar a los 12 meses. En cuanto a los carbohidratos, solo el consumo absoluto de los carbohidratos totales se ve modificado después del diagnóstico ($p = 0.01$). Estos cambios pueden estar relacionados con mayor flexibilidad por parte de los familiares en el control glicémico y mayor permisibilidad hacia el consumo de alimentos menos saludables.

Comparado con lo recomendado por el IOM (2006), los niños con DT1 al diagnóstico y los niños sanos exceden el consumo calórico proveniente de tortillas de harina, bebidas azucaradas, jugos envasados, huevo y galletas con azúcar añadida. Dicho consumo se reduce y se apega a la recomendación con los cambios en la alimentación, así se mantiene después de un año de evolución. Los principales aportadores de calorías son la tortilla de maíz, el huevo, el frijol, el pan integral, la carne de res y la leche semidescremada. Esto es similar a lo encontrado por Carmona Jurado (2010), en niños sonorenses con DT1, donde los alimentos de consumo más frecuente fueron la tortilla de maíz, el plátano, la leche entera y el huevo.

A pesar de que el aporte de energía de la proteína a la dieta se encuentra dentro de lo recomendado por el IOM e ISPAD, se muestra un consumo absoluto de proteína (g/día) alto en todos los subgrupos de niños con DT1 de menos de un año de evolución. Mosso et al. (2015), encontraron también mayor consumo absoluto de proteína en niños chilenos con DT1. Los principales alimentos aportadores de proteína en todos los grupos de nuestro estudio, son huevo, jamón, leche semidescremada y frijol. Como la mayor parte de la

proteína ingerida es de origen animal, conlleva un aumento en el consumo de grasa saturada.

El consumo de grasa total coincide con lo recomendado, excepto en los niños con DT1 al diagnóstico, donde es mayor que en los demás grupos. Este consumo disminuye a los 3 meses, aunque su aporte energético en este periodo también supera la recomendación, debido a las proporciones de proteína y carbohidratos consumidas. La ingestión de grasa saturada es mayor que la recomendada en 3 de los 4 grupos, observándose una disminución después del diagnóstico, y recuperación después de los 6 meses.

Los alimentos que aportan mayor cantidad de grasa a la dieta de los niños sanos y al diagnóstico son la tortilla de harina, el huevo, las galletas con azúcar añadida, la salchicha, el queso chihuahua y las frituras. En el grupo de niños con DT1 de más de 3 meses de evolución se incluye el huevo, aceite para cocinar, carne de res, salchicha, mayonesa y aguacate. Algunos de estos alimentos aportan también grandes cantidades de grasa saturada. Es importante disminuir el consumo de grasa saturada en los niños con DT1, ya que tienen mayor riesgo que la población general a padecer enfermedades cardiovasculares (de Ferranti et al., 2014).

El porcentaje de aporte de energía a la dieta por los carbohidratos se encuentra dentro de la recomendación del IOM y tiende a estar por debajo de la del ISPAD, sin embargo, el consumo absoluto (g/día) es mayor al recomendado en todos los grupos. Enríquez-Leal et al. (2010), Katz et al. (2014), Marigliano et al. (2013), Mosso et al. (2015) y Sundberg et al. (2014), encontraron también consumos de grasas y carbohidratos totales acordes a la recomendación en niños con DT1.

El mayor aporte de carbohidratos en la dieta de los niños sanos lo proporcionan las tortillas de harina, bebidas azucaradas, tortilla de maíz y jugos envasados.

Los niños al diagnóstico de la DT1, consumen además galletas y cereales con azúcar. En cuanto a los niños con DT1 de más de tres meses de evolución, las principales fuentes de carbohidratos son tortilla de maíz, pan integral, y manzana.

Los niños sanos consumen más de lo recomendado por el IOM en cuanto a carbohidratos simples y menos en cuanto a fibra. Después del diagnóstico de la DT1, los nutrientes se apegan a la recomendación durante el primer año y después, vuelven a presentar valores similares al consumo de los niños sanos. La fibra en la dieta de los niños sanos y antes del diagnóstico de aquellos con DT1, proviene de tortilla de harina, galletas con azúcar y frijol. En cambio, los niños de reciente diagnóstico y larga evolución lo obtienen en su mayor parte, de tortilla de maíz, frijol, fruta, pan y cereales integrales. Al parecer, solo durante el primer año de evolución de la DT1 se aumenta el consumo de fibra, volviendo a disminuirlo después de este periodo.

El consumo alto de calorías, y por tanto de macronutrientes, en los niños inmediatamente antes de ser diagnosticados, podría deberse a la polifagia o aumento de apetito, otro de los síntomas comunes en la DT1. Los carbohidratos son la principal fuente de energía del organismo, sin embargo, al no poder metabolizarlos adecuadamente, el organismo no registra su consumo y por ello aumenta el apetito como medida compensatoria (ADA, 2014a). Así, es de esperarse una disminución en el consumo calórico durante la evolución.

No se encontraron diferencias en el porcentaje de hemoglobina glicosilada promedio en cada periodo evaluado en los niños con DT1 de menos de un año de evolución. Sin embargo, en los subgrupos por periodos de 3 meses, se observa que todos los niños al diagnóstico presentaban niveles elevados de esta variable, y que fue disminuyendo al ir controlando la enfermedad. Esto se ve influenciado por los cambios dietarios que realizaron, observando mayor

control glicémico al irse apegando a la recomendación de ingestión de nutrientes.

En la Tabla 5 se enlistan en orden descendiente los alimentos consumidos con más frecuencia por los niños participantes en el estudio, así como el rango de porciones consumidas al día en base al Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes (Pérez Lizaur et al., 2014). Todos los grupos muestran alto consumo de huevo frito, tortillas, y frijol; alimentos típicos de la dieta sonoreense (González Siqueiros, 2008). Sin embargo, en cada grupo la preparación y el tipo de alimento consumido son diferentes. Esto, se ve reflejado en las proporciones de nutrientes que aportan a la dieta de cada grupo de niños.

Los alimentos consumidos por los niños sanos y los niños con DT1 al diagnóstico, son los mismos: huevo frito, tortillas de harina, jugos envasados y bebidas azucaradas, como polvos para preparar bebidas, refrescos y aguas frescas. Ambos grupos difieren solamente en la fuente de proteína que consumen: los niños sanos la obtienen de carne de res, mientras que el frijol es el principal aportador de este nutriente en los niños con DT1 al diagnóstico. Los niños sanos consumen más porciones de bebidas azucaradas que los niños con DT1 al diagnóstico, quienes a su vez, consumen más porciones de jugos envasados y tortillas de harina, comparados con de los sanos. El que los alimentos más consumidos por los niños con DT1 al diagnóstico sean alimentos con alto contenido de carbohidratos simples, es de importancia, ya que el consumo elevado de este nutriente, proveniente especialmente de bebidas, se relaciona con una progresión más rápida a la enfermedad en niños genéticamente predispuestos y que presentan autoinmunidad (Lamb et al., 2015a).

Después del diagnóstico de DT1, el huevo frito y el frijol se mantienen dentro de los alimentos más consumidos de los niños. Además, se cambia el consumo de tortilla de harina por tortilla de maíz. En los primeros tres meses después del

Tabla 5. Porciones de alimentos consumidos al día por los niños sanos y con DT1 (rango de porciones *)

Consumo	Niños Sanos n = 6	DT1 al diagnóstico n = 6	DT1 < 3 meses n = 8	DT1 < 6 meses n = 6	DT1 < 12 meses n = 6	DT1 > 1 año n = 11
+	Huevo frito (0.24 – 2)	Jugos envasados (0.46 – 10.43)	Huevo frito (0.80 – 2)	Huevo frito (0.49 – 2)	Tortilla de maíz (1 – 8)	Huevo frito (0.51 – 3.03)
↓	Tortilla de harina (0.83 – 9.33)	Tortillas de harina (3.10 – 8.60)	Tortilla de maíz (1 – 18)	Tortilla de maíz (2 – 9)	Frijol (0.58 – 1.74)	Tortilla de maíz (1 – 10)
	Carne de res (1.29 – 6.66)	Frijol (0.10 – 1.50)	Manzana (0.46 – 1.84)	Tomate (0.05 – 2)	Huevo frito (0.44 – 2)	Jamón (0.39 – 3.92)
	Jugos envasados (1.95 – 7.85)	Bebidas azucaradas (0.78 – 2.97)	Zanahoria (0.21 – 2.89)	Frijol (0.15 – 2)	Pan integral (1 – 4)	Lechuga (0.04 – 1.77)
-	Bebidas azucaradas (0.84 – 7.39)	Huevo frito (2 – 2.71)	Frijol (0.29 – 3.27)	Pan integral (2 – 4)	Carne de res (2 – 3.53)	Frijol (0.11 – 4)

*El número de porciones consumidas se calculó en base al Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes. Los alimentos se encuentran en orden descendiente de acuerdo al número de niños que los consumieron.

diagnóstico, el consumo de manzana y zanahoria se vuelve más frecuente. Esto, como resultado del apego a mejores hábitos de alimentación indicados para el control de la enfermedad. A los 6 meses de diagnóstico, se integra a la dieta habitual el pan integral y el tomate, estos alimentos son consumidos en forma de sándwich, como un alimento de fácil acceso y preparación. De los 7 a los 12 meses, se mantienen en la dieta los mismos alimentos que a los 6 meses, disminuyendo el consumo de tomate y aumentando el de carne de res, de ahí las diferencias observadas en el consumo de proteína.

Cuando la DT1 presenta años de evolución, aumenta el consumo habitual de lechuga y jamón, y el huevo, la tortilla de maíz y el frijol se mantienen en consumo frecuente. Sin embargo, en este grupo las porciones consumidas de frijol y huevo son mayores que en los demás, lo que explica las diferencias en el consumo de proteína en este grupo, en comparación con los niños sanos y con DT1 de diagnóstico reciente.

Análisis de Microbiota

A nuestro conocimiento, el presente es el primer estudio en evaluar de manera longitudinal, el desequilibrio en la microbiota (como proporción de *Bacteroides*), de niños con DT1 a lo largo de los primeros meses de evolución. Aunque hay varios estudios de seguimiento de niños con alto riesgo a DT1, todos finalizan al diagnosticarse la enfermedad (Alkanani et al., 2015, Davis-Richardson et al., 2014, de Goffau et al., 2014). En la Figura 2 se muestra el promedio de la proporción de *Bacteroides* en función de las bacterias totales presentes en las heces de los niños del estudio. En la gráfica, se encuentran agrupados en niños sanos, con DT1 a los 3, 6 y 12 meses del diagnóstico; y con DT1 de más de 1 año de evolución.

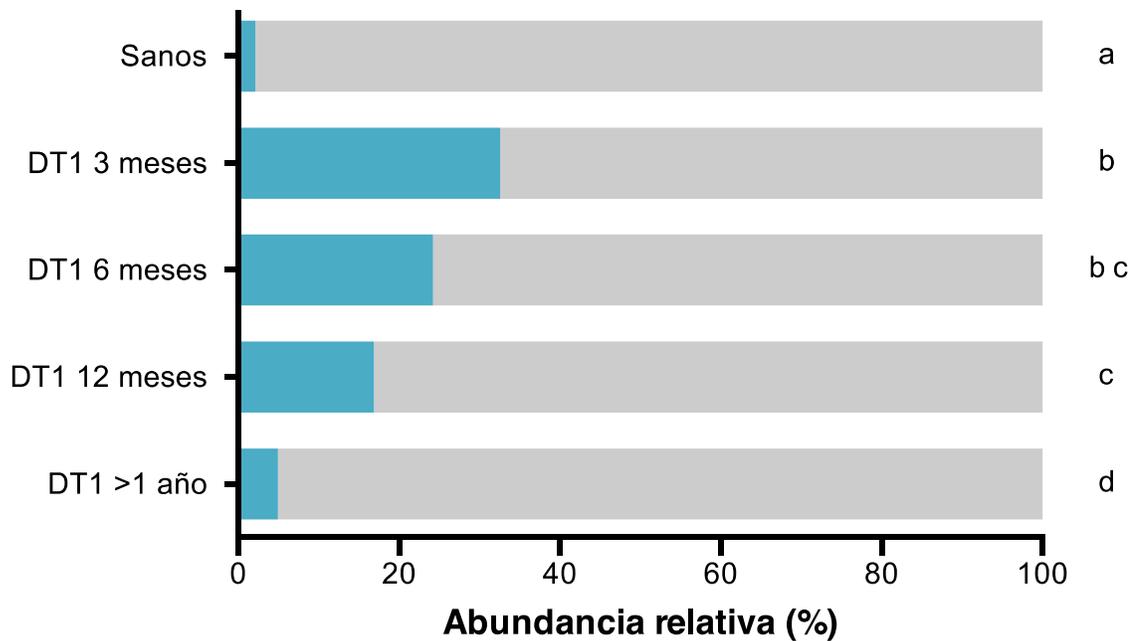


Figura 2. Promedio de abundancia relativa de *Bacteroides* en relación a bacterias totales, en las heces de los niños del estudio. ■ *Bacteroides*, ■ Bacterias totales. ANOVA de una vía $p < 0.05$. ANOVA de mediciones repetidas $p < 0.05$.

La abundancia de *Bacteroides* en la microbiota intestinal de los niños con DT1 y el tiempo de evolución de la enfermedad se asociaron negativamente entre sí, por análisis de regresión ($\beta = -4.677$, $p = 0.001$). Así, a lo largo del primer año de evolución de la enfermedad, gradualmente disminuye la proporción de *Bacteroides* en la microbiota de los niños con DT1. Previamente, se había encontrado que era menor la proporción de *Bacteroides*, en los niños con DT1 de la misma población, con más de 2 años de evolución, respecto a los de nuevo diagnóstico (Mejía-León et al., 2014). Dicho estudio fue muy útil para saber que las proporciones de *Bacteroides* y *Prevotella* eran los géneros principales (casi el 50% del total) que variaban en la DT1, de acuerdo al análisis por pirosecuenciación y así analizar solo *Bacteroides*, por PCR en tiempo real.

En el citado estudio de Mejía-León et al. (2014), no se analizaron los factores que pudieran influir en los cambios en la microbiota en DT1 respecto a la salud o durante la evolución. De aquí la importancia de analizar la relación con otros factores, como el estado nutricional, la hemoglobina glicosilada y la dieta.

Microbiota, IMC y hemoglobina glicosilada

No se encontró asociación entre la abundancia de *Bacteroides* en la microbiota de los niños con DT1 y el puntaje de IMC para la edad o el sexo. Se indagó si el porcentaje de hemoglobina glicosilada (HbA1c) en sangre tenía efecto en los cambios en la microbiota intestinal, ya que es una de las variables que se modifica con el tiempo de evolución de la DT1. Se hubiera esperado que los niños redujeran los niveles de HbA1c a lo largo de la evolución. Esto solo ocurrió al inicio, cuando una quinta parte de los niños se apegaron mejor a la recomendación de mantenerla por debajo de 7.5%, mientras solo la décima parte de los de larga evolución la acataban. Así, la asociación encontrada entre la proporción de *Bacteroides* en la microbiota (como logaritmo natural) y el porcentaje de HbA1c, fue negativa ($\beta = -0.113$, $p = 0.04$). Este resultado explica que la proporción de *Bacteroides* disminuye a lo largo de la evolución, por otros factores, mientras que el control glicémico (como HbA1c) no mejora.

Posiblemente el “apego” a la recomendación de mantener baja la HbA1c no fue tal en los primeros tiempos de tratamiento, sino un efecto de la “luna de miel”, en donde la producción de insulina aumenta al iniciar la terapia con insulina exógena (Silverstein et al., 2005). Esto hace que disminuya el número de dosis de insulina requeridas para el control glicémico y por consiguiente, sea más sencillo mantener el control.

Análisis de Microbiota y Dieta

Se analizó la relación entre el consumo de nutrientes y la proporción de *Bacteroides* en la microbiota fecal de los niños con DT1. En la Tabla 6 se muestran los modelos de regresión utilizados y sus significancias con las variables normalizadas por logaritmo natural. El aumento en el consumo de proteína (g/día) se asoció de manera lineal con mayor proporción de *Bacteroides* ($\beta = 0.014$, $p = 0.033$). Los principales aportadores de proteína en la dieta de los niños con DT1 en general son huevo, carne, pollo y leche descremada, es decir, son de origen animal. Así mismo, el consumo de grasa saturada (% E) tuvo asociación positiva con *Bacteroides* ($\beta = 0.117$, $p = 0.033$), lo que confirma que la proteína de la dieta que se asocia a este género bacteriano, es de origen animal.

Por su parte, el consumo de fibra mostró relación negativa con la proporción de *Bacteroides* ($\beta = -1.874$, $p = 0.037$). Los principales aportadores de fibra en la dieta de los niños con DT1 son frijol, tortilla de maíz, manzana, aguacate y pan integral. Estos alimentos contienen fibra soluble e insoluble, por lo que se le puede atribuir este efecto a ambos tipos. Aún no se conoce bien la relación entre la fibra ingerida y la microbiota intestinal en la salud, mientras que hay estudios que encuentran asociación entre *Bacteroides* y la ingestión de fibra, otros la niegan. Un estudio evaluó la relación entre los productos de fermentación de la fibra y *Bacteroides* en niños con DT1, encontrando asociación positiva con la concentración de acetato en heces humanas (Lamichhane et al., 2014). Otro estudio realizado en España, no encontró relación entre *Bacteroides* y la fibra consumida por individuos sanos (Cuervo et al., 2014). Posiblemente, en la DT1 no se siga el mismo patrón que en un estado saludable.

Tabla 6. Modelos de asociación entre la abundancia de *Bacteroides*[†] en la microbiota intestinal y el consumo de nutrientes

Variable independiente	β crudo	Valor-p	β ajustado	Valor-p	Variables de ajuste
Energía (kcal/día)	-0.00007	0.789	-0.0003	0.358	Grasa saturada (%E), Fibra, Edad, %HbA1c
Proteína (g/día)	0.014	0.033 *	0.014	0.036 *	Energía
Proteína (% E)	0.044	0.292	0.068	0.078	Fibra, Grasa saturada (%E), Etapa de DT1
Grasa total (g/día)	0.005	0.322	0.012	0.092	%HbA1c, IMC/E
Grasa total (% E)	-0.002	0.906	0.032	0.142	%HbA1c, Fibra, Energía
Grasa saturada (g/día) [†]	0.082	0.552	0.285	0.057	%HbA1c
Grasa saturada (% E)	-0.011	0.777	0.117	0.033 *	Energía, Fibra, %HbA1c, IMC/E
Carbohidratos totales (g/día) [†]	0.914	0.353	1.221	0.242	%HbA1c
Carbohidratos totales (% E)	-0.005	0.746	-0.028	0.163	Etapa de DT1, Fibra, %HbA1c, Energía
Carbohidratos simples (g/día) [†]	0.079	0.395	0.112	0.200	Etapa de DT1, %HbA1c
Carbohidratos simples (% E) [†]	-0.081	0.675	-0.097	0.607	Grasa saturada (%E), Edad
Fibra (g/día) [†]	-1.51	0.053	-1.874	0.037 *	Energía, Grasa saturada (g/día)

kcal/día: calorías al día % E: porcentaje de la energía total consumida. g/día: gramos al día. [†] Valores normalizados por logaritmo natural. * Asociaciones significativas $p < 0.05$

Para los modelos que resultaron significativos, se realizó el análisis de regresión con las variables sin normalizar. Esto, para hacer inferencias sobre la magnitud del posible efecto de la dieta con la abundancia de *Bacteroides* en la microbiota, mediante el coeficiente β . Así, por cada gramo de proteína consumida al día, aumenta la proporción de *Bacteroides* en 0.43% ($p=0.011$). El aumento de 1% en el aporte de grasa saturada a la dieta, aumenta la abundancia de *Bacteroides* en 3.03% ($p=0.026$). Para la fibra, el aumento en cada gramo consumido, disminuye *Bacteroides* en 0.74% ($p=0.011$). Así, se puede apreciar que el mayor efecto en la abundancia de *Bacteroides*, está dado por el consumo de grasa saturada en la dieta.

Las asociaciones encontradas de los nutrientes ingeridos con la abundancia de *Bacteroides* se pueden agrupar: mayor consumo de proteína y grasa saturada y menor consumo de fibra. Dicho conjunto coincide con lo encontrado por Wu et al. (2011), que relacionaron las dietas altas en proteína y grasa animal y bajas en fibra, en personas sanas, con mayor concentración de *Bacteroides* en heces. Este es el patrón de alimentación conocido como “occidentalizado”. Al buscar asociaciones de la dieta con la microbiota intestinal es necesario considerar las interacciones que se dan entre los nutrientes, tal y como sucede fisiológicamente.

En un estudio en ratones modelo, con propensión a DT1, se encontró mayor abundancia de *Bacteroides* en su microbiota intestinal, que en el grupo control (Roesch et al., 2009). En este modelo animal se ha estudiado también la relación de la dieta con la microbiota y se muestra una reducción en la proporción de *Bacteroides* en ratones alimentados con dietas altas en grasas, comparado con los controles (Cani et al., 2007). Sin embargo, el tipo de grasa es de importancia, ya que la grasa administrada a estos ratones provenía de aceites, no de origen animal. De cualquier manera, como lo afirman Davis-Richardson y Triplett (2015), los ratones no son el mejor modelo para estudiar la relación de la dieta y la microbiota en DT1.

Como en el presente estudio, los niños fineses menores de 6 años con DT1, presentan niveles elevados de *Bacteroides* en la microbiota intestinal al diagnóstico, en comparación de los niños sanos (de Goffau et al., 2014). Otro estudio en ese país, evaluó la dieta a los 3, 12 y 24 meses de evolución de DT1, de niños de la misma edad, y mostró disminución en el consumo de proteína y fibra, y aumento en el consumo de grasa después de 2 años de evolución de la enfermedad (Virtanen et al., 2000). En esa población, es posible que el elevado consumo de proteína a los 3 meses de diagnóstico se relacione con la abundancia de *Bacteroides* después del diagnóstico, aunque no se ha estudiado la relación, sino que los datos de microbiota y dieta son de dos estudios independientes.

El propósito de evaluar la microbiota de los niños nacidos con riesgo y/o con DT1 e identificar si la alimentación tiene efecto en la disbiosis de la microbiota, es buscar alternativas de prevención, de diagnóstico temprano o medidas de control. En niños menores de 2 años de Finlandia, quienes presentan autoinmunidad a DT1 o que desarrollaron la enfermedad, hay mayor abundancia de *Bacteroides dorei* que en los niños sin autoinmunidad. Incluso meses antes de la presencia de auto-anticuerpos, ya existe mayor abundancia de esta especie (Davis-Richardson et al., 2014). Se ha llegado a conclusiones similares en niños de Estados Unidos, Alemania y otro estudio de Finlandia (Brown et al., 2011, Endesfelder et al., 2014, Giongo et al., 2011). Así, cuando la microbiota se encuentra en desbalance meses antes de que se presente la autoinmunidad, es posible que ésta pueda modularse con cambios dietarios para evitar su desarrollo, mediante una dieta balanceada.

En niños con enfermedad celiaca, una enfermedad autoinmune con factores de predisposición similares a los de DT1, las modificaciones dietarias tienen un efecto en la recuperación de la disbiosis de la microbiota. Los niños de España con enfermedad celiaca que mantenían una dieta sin gluten, mostraron menor

proporción de *Bacteroides* en biopsias duodenales, que los niños con la enfermedad activa (Sanchez et al., 2010). En este tema, se ha propuesto que el consumo de gluten pueda participar en el desarrollo de la autoinmunidad en los niños con DT1 (Antvorskov et al., 2014).

Tanto la dieta como la composición de la microbiota tienen unos valores al diagnóstico de DT1, y van cambiando al evolucionar la enfermedad, por lo cual se infiere que *Bacteroides* se asocia con la enfermedad. Además, se puede observar que los cambios de la dieta van teniendo un efecto en la composición de la microbiota y participan en la recuperación de la disbiosis presente al diagnóstico.

CONCLUSIÓN

Al diagnóstico, cuando aún no hay cambios en la dieta de los niños con DT1, el consumo calórico, de grasa y carbohidratos totales, es mayor que el de niños sanos. Al reducir el consumo de carbohidratos, aumenta el aporte de energía proveniente de proteína. Después de 12 meses de evolución, los niños con DT1 cumplen las recomendaciones dietéticas, lo que se refleja en la composición de su microbiota intestinal.

La proporción de *Bacteroides* en la microbiota de niños sanos es muy baja en comparación a la de los niños con DT1 al diagnóstico. En la evolución, esta proporción disminuye gradualmente, llegando al año a valores muy cercanos a los de niños sanos. Esto se debe a que la disminución en el consumo de grasa total y saturada y mayor consumo de fibra, se asocia con menor abundancia de *Bacteroides* en la microbiota intestinal. Así, a pesar de que el consumo de proteína se mantiene estable a lo largo de la evolución, aunque su proporción como porcentaje aumenta. El consumo de grasa saturada y fibra es mayor en los niños con DT1 de larga evolución, que en los niños sanos. Esto podría ser la razón de que la microbiota no regrese por completo a su balance original.

La dieta de los niños sanos y los niños al diagnóstico es similar, sin embargo, su microbiota es muy diferente. Por lo tanto, se propone que el efecto de la disbiosis presente al diagnóstico es propio de la enfermedad. En cambio, durante la evolución, son los cambios en la dieta los que no permiten que la microbiota vuelva a su balance original. Si los niños con DT1 tuvieran un mayor apego a las recomendaciones dietéticas, podrían llegar a recuperar el balance de la microbiota y posiblemente también lograrían un mejor control glicémico.

BIBLIOGRAFÍA

- ADA. 2014a. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 37 Suppl 1: S81-90.
- ADA. 2014b. Standards of medical care in diabetes-2014. *Diabetes Care*. 37 Suppl 1: S14-80.
- ADA. 2015. Standards of medical care in diabetes-2015. *Diabetes Care*. 38: S1-93.
- Aguayo-Patrón, S. V. & Calderón de la Barca, A. M. 2015. Dried blood spots DNA extraction and duplex qPCR reactions for HLA-DQ2 and DQ8 massive genotyping. *Journal of Immunological Methods*. (Manuscrito en preparación).
- Al-Haddad, F., Musaiger, A., Al-Qallaf, S. M. & Hart, K. 2015. Dietary Intake of Children with Type 1 Diabetes in Bahrain: A Case- Control Study. *International Journal of Child Health and Nutrition*. 4(2): 83-89.
- Alkanani, A. K., Hara, N., Gottlieb, P. A., Ir, D., Robertson, C. E., Wagner, B. D., Frank, D. N. & Zipris, D. 2015. Alterations in Intestinal Microbiota Correlate with Susceptibility to Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 10.2337/db14-1847:
- Antvorskov, J. C., Josefsen, K., Engkilde, K., Funda, D. P. & Buschard, K. 2014. Dietary gluten and the development of type 1 diabetes. *Diabetologia*. 57(9): 1770-80.
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., Fernandes, G. R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J.-M., et al. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 473(7346): 174-180.
- Bantle, J. P., Wylie-Rosett, J., Albright, A. L., Apovian, C. M., Clark, N. G., Franz, M. J., Hoogwerf, B. J., Lichtenstein, A. H., Mayer-Davis, E., Mooradian, A. D., et al. 2008. Nutrition recommendations and interventions for diabetes: A position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 31(1): S61-78.
- Borg, H., Marcus, C., Sjoblad, S., Fernlund, P. & Sundkvist, G. 2000. Islet cell antibody frequency differs from that of glutamic acid decarboxylase antibodies/IA2 antibodies after diagnosis of diabetes. *Acta Paediatr*. 89(1): 46-51.
- Brand-Miller, J., Hayne, S., Petocz, P. & Colagiuri, S. 2003. Low-glycemic index diets in the management of diabetes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Care*. 26(8): 2261-7.

- Brown, C. T., Davis-Richardson, A. G., Giongo, A., Gano, K. A., Crabb, D. B., Mukherjee, N., Casella, G., Drew, J. C., Ilonen, J., Knip, M., et al. 2011. Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PLoS ONE*. 6(10): e25792.
- Cadario, F., Prodam, F., Pasqualicchio, S., Bellone, S., Bonsignori, I., Demarchi, I., Monzani, A. & Bona, G. 2012. Lipid profile and nutritional intake in children and adolescents with type 1 diabetes improve after a structured dietician training to a mediterranean-style diet. *Journal of Endocrinological Investigation*. 35(2): 160-8.
- Calderón de la Barca, A. M. & Valencia-Tapia, M. Y. 2013. Ascendencia de Neonatos Nacidos en el Hospital Infantil del Estado de Sonora. *Boletín Clínico Hospital Infantil del Estado de Sonora*. 30(2): 68-70.
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Tuohy, K. M., Chabo, C., et al. 2007. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 56(7): 1761-72.
- Cani, P. D., Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M. & Burcelin, R. 2008. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 57(6): 1470-81.
- Cardwell, C. R., Stene, L. C., Jøner, G., Cinek, O., Svensson, J., Goldacre, M. J., Parslow, R. C., Pozzilli, P., Brigis, G., Stoyanov, D., et al. 2008. Caesarean section is associated with an increased risk of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: A meta-analysis of observational studies. *Diabetologia*. 51(5): 726-35.
- Carmona Jurado, M. d. R. 2010. Diseño y evaluación de un programa para automanejo de la diabetes en niños y adolescentes de nivel socioeconómico medio y bajo. (Maestría en Ciencias), Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora. Obtenido de Available from database.
- Casanueva, E., Kauffer-Horwitz, M., Pérez-Lizaur, A. B. & Arroyo, P. 2001. *Nutriología médica*. Fundación Mexicana para la Salud; Editorial Médica Panamericana. ED. México. 719 pp.
- Cole, J. R., Chai, B., Farris, R. J., Wang, Q., Kulam, S. A., McGarrell, D. M., Garrity, G. M. & Tiedje, J. M. 2005. The Ribosomal Database Project (RDP-II): sequences and tools for high-throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Res*. 33(Database issue): D294-6.
- Conlon, M. A. & Bird, A. R. 2015. The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health. *Nutrients*. 7(1): 17-44.

- Cuervo, A., Valdés, L., Salazar, N., de los Reyes-Gavilán, C. G., Ruas-Madiedo, P., Gueimonde, M. & González, S. 2014. Pilot Study of Diet and Microbiota: Interactive Associations of Fibers and Polyphenols with Human Intestinal Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62(23): 5330-5336.
- Davis-Richardson, A. G., Ardissonne, A. N., Dias, R., Simell, V., Leonard, M. T., Kemppainen, K. M., Drew, J. C., Schatz, D., Atkinson, M. A., Kolaczowski, B., et al. 2014. *Bacteroides dorei* dominates gut microbiome prior to autoimmunity in Finnish children at high risk for type 1 diabetes. *Front Microbiol*. 5: 678.
- Davis-Richardson, A. G. & Triplett, E. W. 2015. A model for the role of gut bacteria in the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *Diabetologia*. 58(7): 1386-93.
- de Ferranti, S. D., de Boer, I. H., Fonseca, V., Fox, C. S., Golden, S. H., Lavie, C. J., Magge, S. N., Marx, N., McGuire, D. K., Orchard, T. J., et al. 2014. Type 1 diabetes mellitus and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association and American Diabetes Association. *Circulation*. 130(13): 1110-30.
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G. & Lionetti, P. 2010. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107(33): 14691-6.
- de Goffau, M. C., Fuentes, S., van den Bogert, B., Honkanen, H., de Vos, W. M., Welling, G. W., Hyöty, H. & Harmsen, H. J. M. 2014. Aberrant gut microbiota composition at the onset of type 1 diabetes in young children. *Diabetologia*. 10.1007/s00125-014-3274-0:
- de Onis, M., Onyango, A. W., Borghi, E., Siyam, A., Nishida, C. & Siekmann, J. 2007. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ*. 85(9): 660-7.
- Endesfelder, D., Zu Castell, W., Ardissonne, A., Davis-Richardson, A. G., Achenbach, P., Hagen, M., Pflueger, M., Gano, K. A., Fagen, J. R., Drew, J. C., et al. 2014. Compromised gut microbiota networks in children with anti-islet cell autoimmunity. *Diabetes*. 63(6): 2006-14.
- Enríquez-Leal, M. C., Montaña-Figueroa, C. A., Saucedo-Tamayo, M. S., Vidal Ochoa, M. G., Rivera-Icedo, B. M., Cabrera, R.-M., Ballesteros, M.-N. & Ortega-Vélez, M. I. 2010. Incidencia, características clínicas y estado nutricional en niños y adolescentes mexicanos con diabetes. *Interciencia*. 35(6):

- FID. 2013. Atlas de la Diabetes de la FID. Obtenido de <http://www.idf.org/diabetesatlas>.
- Frank, J. A., Reich, C. I., Sharma, S., Weisbaum, J. S., Wilson, B. A. & Olsen, G. J. 2008. Critical Evaluation of Two Primers Commonly Used for Amplification of Bacterial 16S rRNA Genes. *Appl Environ Microbiol.* 74(8): 2461-70.
- Franks, A. H., Harmsen, H. J., Raangs, G. C., Jansen, G. J., Schut, F. & Welling, G. W. 1998. Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Appl Environ Microbiol.* 64(9): 3336-45.
- Frederiksen, B., Kroehl, M., Lamb, M. M., Seifert, J., Barriga, K., Eisenbarth, G. S., Rewers, M. & Norris, J. M. 2013. Infant exposures and development of type 1 diabetes mellitus: The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *JAMA Pediatr.* 167(9): 808-15.
- Giongo, A., Gano, K. A., Crabb, D. B., Mukherjee, N., Novelo, L. L., Casella, G., Drew, J. C., Ilonen, J., Knip, M., Hyoty, H., et al. 2011. Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes. *The ISME Journal.* 5(1): 82-91.
- González Siqueiros, L. E. 2008. Cambios en el patrón de consumo de alimentos y su relación con riesgo de enfermedades crónicas en la población sonorenses. (Maestría en Ciencias), Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora. Obtenido de Available from database.
- Guarner, F. 2007. Role of intestinal flora in health and disease. *Nutrición Hospitalaria.* 22(Suppl 2): 14-9.
- Hijova, E. & Chmelarova, A. 2007. Short chain fatty acids and colonic health. *Bratisl Lek Listy.* 108(8): 354-8.
- ISPAD. 2011. Global IDF/ISPAD Guideline for Diabetes in Childhood and Adolescence. Obtenido de <http://www.ispad.org>.
- Kantarova, D., Vrlík, M. & Buc, M. 2012. Genetic determination and immunopathogenesis of type 1 diabetes mellitus in humans. *Acta Medica Martiniana.* 12(2): 19-31.
- Katz, M. L., Mehta, S., Nansel, T., Quinn, H., Lipsky, L. M. & Laffel, L. M. 2014. Associations of nutrient intake with glycemic control in youth with type 1 diabetes: Differences by insulin regimen. *Diabetes Technology & Therapeutics.* 16(8):
- Knip, M. & Simell, O. 2012. Environmental Triggers of Type 1 Diabetes. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2(7):

- Laing, S. P., Swerdlow, A. J., Slater, S. D., Burden, A. C., Morris, A., Waugh, N. R., Gatling, W., Bingley, P. J. & Patterson, C. C. 2003. Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia*. 46(6): 760-5.
- Lamb, M. M., Frederiksen, B., Seifert, J. A., Kroehl, M., Rewers, M. & Norris, J. M. 2015a. Sugar intake is associated with progression from islet autoimmunity to type 1 diabetes: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young. *Diabetologia*. 10.1007/s00125-015-3657-x:
- Lamb, M. M., Miller, M., Seifert, J. A., Frederiksen, B., Kroehl, M., Rewers, M. & Norris, J. M. 2015b. The effect of childhood cow's milk intake and HLA-DR genotype on risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young. *Pediatr Diabetes*. 16(1): 31-8.
- Lamb, M. M., Yin, X., Barriga, K., Hoffman, M. R., Baron, A. E., Eisenbarth, G. S., Rewers, M. & Norris, J. M. 2008. Dietary glycemic index, development of islet autoimmunity, and subsequent progression to type 1 diabetes in young children. *J Clin Endocrinol Metab*. 93(10): 3936-42.
- Lamichhane, S., Yde, C. C., Forssten, S., Ouwehand, A. C., Saarinen, M., Jensen, H. M., Gibson, G. R., Rastall, R., Fava, F. & Bertram, H. C. 2014. Impact of dietary polydextrose fiber on the human gut metabolome. *J Agric Food Chem*. 62(40): 9944-51.
- Lopez-Legarrea, P., Fuller, N. R., Zulet, M. A., Martinez, J. A. & Caterson, I. D. 2014. The influence of Mediterranean, carbohydrate and high protein diets on gut microbiota composition in the treatment of obesity and associated inflammatory state. *Asia Pac J Clin Nutr*. 23(3): 360-8.
- Lund-Blix, N. A., Stene, L. C., Rasmussen, T., Torjesen, P. A., Andersen, L. F. & Ronningen, K. S. 2015. Infant feeding in relation to islet autoimmunity and type 1 diabetes in genetically susceptible children: the MIDIA Study. *Diabetes Care*. 38(2): 257-63.
- Ma, R. C. W. & Chan, J. C. N. 2009. Diabetes: incidence of childhood type 1 diabetes: a worrying trend. *Nature Reviews Endocrinology*. 5(10): 529-30.
- Maffei, C., Morandi, A., Ventura, E., Sabbion, A., Contreas, G., Tomasselli, F., Tommasi, M., Fasan, I., Costantini, S. & Pinelli, L. 2012. Diet, physical, and biochemical characteristics of children and adolescents with type 1 diabetes: Relationship between dietary fat and glucose control. *Pediatric Diabetes*. 13(2): 137-46.
- Manz, W., Amann, R., Ludwig, W., Vancanneyt, M. & Schleifer, K. H. 1996. Application of a suite of 16S rRNA-specific oligonucleotide probes designed to investigate bacteria of the phylum cytophaga-flavobacter-

bacteroides in the natural environment. *Microbiology*. 142 (Pt 5): 1097-106.

- Marigliano, M., Morandi, A., Maschio, M., Sabbion, A., Contreas, G., Tomasselli, F., Tommasi, M. & Maffei, C. 2013. Nutritional education and carbohydrate counting in children with type 1 diabetes treated with continuous subcutaneous insulin infusion: The effects on dietary habits, body composition and glycometabolic control. *Acta Diabetológica*. 50(6): 959-64.
- Mehta, S. N., Volkening, L. K., Quinn, N. & Laffel, L. M. B. 2014. Intensively managed young children with type 1 diabetes consume high-fat, low-fiber diets similar to age-matched controls. *Nutrition Research*. 34(5): 428-435.
- Mejía-León, M. E., F. Petrosino, J., Ajami, N. J., Domínguez-Bello, M. G. & Calderón de la Barca, A. M. 2014. Fecal microbiota imbalance in Mexican children with type 1 diabetes. *Scientific Reports*. 4: 3814.
- Mejía-León, M. E., Ruiz-Dyck, K. M. & Calderón de la Barca, A. M. 2015. HLA-DQ genetic risk gradient for type 1 diabetes and celiac disease in north-western Mexico. *Rev Gastroenterol Mex*. 10.1016/j.rgm.2015.03.003:
- Moreira, A. P., Texeira, T. F., Ferreira, A. B., Peluzio Mdo, C. & Alfenas Rde, C. 2012. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *Br J Nutr*. 108(5): 801-9.
- Mosso, C., Halabi, V., Ortiz, T. & Hodgson, M. I. 2015. Dietary intake, body composition, and physical activity among young patients with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 10.1515/jpem-2014-0334:
- Murri, M., Leiva, I., Gomez-Zumaquero, J. M., Tinahones, F. J., Cardona, F., Soriguer, F. & Queipo-Ortuno, M. I. 2013. Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: A case-control study. *BMC Medicine*. 11: 46.
- Nakayama, J., Watanabe, K., Jiang, J., Matsuda, K., Chao, S. H., Haryono, P., La-Ongkham, O., Sarwoko, M. A., Sujaya, I. N., Zhao, L., et al. 2015. Diversity in gut bacterial community of school-age children in Asia. *Sci Rep*. 5: 8397.
- Nansel, T. R., Haynie, D. L., Lipsky, L. M., Laffel, L. M. & Mehta, S. N. 2012. Multiple indicators of poor diet quality in children and adolescents with type 1 diabetes are associated with higher body mass index percentile but not glycemic control. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 112(11): 1728-35.
- Notkins, A. L. & Lernmark, A. 2001. Autoimmune type 1 diabetes: Resolved and unresolved issues. *The Journal of Clinical Investigation*. 108(9): 1247-52.

- OECD. 2011. Diabetes prevalence and incidence. OECD Publishing Obtenido de http://dx.doi.org/10.1787/health_glance-2011-13-en.
- Olerup, O., Aldener, A. & Fogdell, A. 1993. HLA-DQB1 and -DQA1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. *Tissue Antigens*. 41(3): 119-34.
- Ortega Vélez, M. I., Morales Figueroa, G. G., Quizán Plata, T. & Preciado Rodríguez, M. 1999. Cálculo de ingestión dietaria y coeficientes de adecuación a partir de registro de 24 horas y frecuencia de consumo de alimentos: estimación del consumo de alimentos. Cuaderno de trabajo No.1. Serie de Evaluación del Consumo de Alimentos. Dirección de Nutrición. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora. Obtenido de
- Otten, J. J., Hellwig, J. P. & Meyers, L. D. 2006. DRI, Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements. The National Academies Press. ED. Washington, DC. 560 pp.
- Papadaki, A., Linardakis, M., Codrington, C. & Kafatos, A. 2008. Nutritional intake of children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus in crete, Greece. A case-control study. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 52(4): 308-14.
- Pérez Lizaur, A., Palacios González, B. & Castro Becerra, A. L. 2014. Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes. Fomento de Nutrición y Salud. 4a ED. México, DF. 160 pp.
- Pozzilli, P., Guglielmi, C., Caprio, S. & Buzzetti, R. 2011. Obesity, autoimmunity, and double diabetes in youth. *Diabetes Care*. 34(Suppl 2): S166-70.
- Queiroz, K. C., Novato Silva, I. & de Cassia Goncalves Alfenas, R. 2012. Influence of the glycemic index and glycemic load of the diet in the glycemic control of diabetic children and teenagers. *Nutrición Hospitalaria*. 27(2): 510-5.
- Quizán Plata, T., Anaya Barragán, C., Esparza Romero, J., Orozco García, M. E., Espinoza López, A. & Bolaños Villar, A. V. 2013. Efectividad del programa Promoción de alimentación saludable en estudiantes de escuelas públicas del estado de Sonora. *Estudios Sociales*. 21(42): 175-203.
- Roesch, L. F., Lorca, G. L., Casella, G., Giongo, A., Naranjo, A., Pionzio, A. M., Li, N., Mai, V., Wasserfall, C. H., Schatz, D., et al. 2009. Culture-independent identification of gut bacteria correlated with the onset of diabetes in a rat model. *Isme j*. 3(5): 536-48.

- Rovner, A. J. & Nansel, T. R. 2009. Are children with type 1 diabetes consuming a healthful diet?: A review of the current evidence and strategies for dietary change. *The Diabetes Educator*. 35(1): 97-107.
- Sanchez, E., Donat, E., Ribes-Koninckx, C., Calabuig, M. & Sanz, Y. 2010. Intestinal *Bacteroides* species associated with coeliac disease. *Journal of Clinical Pathology*. 63(12): 1105-11.
- Scott, K. P., Gratz, S. W., Sheridan, P. O., Flint, H. J. & Duncan, S. H. 2013. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacological Research*. 69(1): 52-60.
- Sheard, N. F., Clark, N. G., Brand-Miller, J. C., Franz, M. J., Pi-Sunyer, F. X., Mayer-Davis, E., Kulkarni, K. & Geil, P. 2004. Dietary carbohydrate (amount and type) in the prevention and management of diabetes: A statement by the american diabetes association. *Diabetes Care*. 27(9): 2266-71.
- Silva, F. M., Kramer, C. K., de Almeida, J. C., Steemburgo, T., Gross, J. L. & Azevedo, M. J. 2013. Fiber intake and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr Rev*. 71(12): 790-801.
- Silverstein, J., Klingensmith, G., Copeland, K., Plotnick, L., Kaufman, F., Laffel, L., Deeb, L., Grey, M., Anderson, B., Holzmeister, L. A., et al. 2005. Care of children and adolescents with type 1 diabetes: A statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 28(1): 186-212.
- Smart, C., Aslander-van Vliet, E. & Waldron, S. 2009. Nutritional management in children and adolescents with diabetes. *Pediatric Diabetes*. 10(Suppl 12): 100-17.
- StataCorp. 2013. *Stata: Release 13*. StataCorp LP. College Station, TX.
- Sundberg, F., Augustsson, M., Forsander, G., Cederholm, U. & Axelsen, M. 2014. Children under the age of seven with diabetes are increasing their cardiovascular risk by their food choices. *Acta Paediatrica*. 103(4): 404-10.
- Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán (1980). *Tablas de composición de alimentos*. Subdirección de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos. México. 1-248
- Tack, G. J., Verbeek, W. H., Schreurs, M. W. & Mulder, C. J. 2010. The spectrum of celiac disease: Epidemiology, clinical aspects and treatment. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 7(4): 204-13.
- Thompson, F. E. & Subar, A. F. Dietary assessment methodology. En: Coulston, A. M., Rock, C. L. & Mosen, E. R., *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease*. San Diego: Academic Press, 2001:3-30.

- U.S. Department of Agriculture, A. R. S. 2014. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27. Obtenido de <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>
- Vajro, P., Paoella, G. & Fasano, A. 2013. Microbiota and gut-liver axis: Their influences on obesity and obesity-related liver disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 56(5): 461-8.
- Valencia-Tapia, M. Y. 2015. Desarrollo de un protocolo de tamizaje para evaluar el riesgo a desarrollar Enfermedad Celiaca o Diabetes Tipo 1 en escolares sonorenses. (Maestría en Ciencias), Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora. Obtenido de Available from database.
- Virtanen, S. M., Ylonen, K., Rasanen, L., Ala-Venna, E., Maenpaa, J. & Akerblom, H. K. 2000. Two year prospective dietary survey of newly diagnosed children with diabetes aged less than 6 years. *Archives of Disease in Childhood*. 82(1): 21-6.
- Voreades, N., Kozil, A. & Weir, T. L. 2014. Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Front Microbiol*. 5: 494.
- Weber, K. S., Raab, J., Haupt, F., Aschemeier, B., Wosch, A., Ried, C., Kordonouri, O., Ziegler, A. G. & Winkler, C. 2014. Evaluating the diet of children at increased risk for type 1 diabetes: first results from the TEENDIAB study. *Public Health Nutr*. 10.1017/S1368980013003406: 1-9.
- WHO. 1995. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: World Health Organization Obtenido de [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37003/1/WHO TRS 854.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37003/1/WHO_TRS_854.pdf).
- WHO. 2009. AnthroPlus. Geneva. <http://www.who.int/growthref/tools/en/>
- Wood, J. R., Miller, K. M., Maahs, D. M., Beck, R. W., DiMeglio, L. A., Libman, I. M., Quinn, M., Tamborlane, W. V. & Woerner, S. E. 2013. Most youth with type 1 diabetes in the T1D Exchange Clinic Registry do not meet American Diabetes Association or International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes clinical guidelines. *Diabetes Care*. 36(7): 2035-7.
- Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y. Y., Keilbaugh, S. A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W. A., Knight, R., et al. 2011. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 334(6052): 105-8.
- Zhang, C., Zhang, M., Wang, S., Han, R., Cao, Y., Hua, W., Mao, Y., Zhang, X., Pang, X., Wei, C., et al. 2010. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *The ISME Journal*. 4(2): 232-41.

Ziegler, A. G., Schmid, S., Huber, D., Hummel, M. & Bonifacio, E. 2003. Early infant feeding and risk of developing type 1 diabetes-associated autoantibodies. *The Journal of the American Medical Association*. 290(13): 1721-8.