



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
Unidad Xochimilco



**Instituto Nacional de  
Medicina Genómica**  
MÉXICO

**Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco**  
**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**  
**Licenciatura en Nutrición Humana**

Informe de servicio social:

**Estudio comparativo de la microbiota intestinal en niños menores de 3 años  
provenientes de mujeres con o sin diabetes gestacional.  
(estudio piloto)**

Alumna:

**Laura Verónica Sánchez López**

Matrícula:

**2183027001**

Asesora interna: **María de los Ángeles Espinosa Cuevas**

Asesora externa: **Noemí Meraz Cruz**

Lugar de realización:

**Instituto Nacional de Medicina Genómica, UNAM**

Fecha de realización:

**Febrero 2023 – Julio 2023**

## ÍNDICE

1.- Introducción.....	3
2.- Objetivos.....	3
2.1 General.....	3
2.2 Específicos.....	4
3.- Justificación.....	5
4.- Marco teórico.....	5
4.1 Diabetes Mellitus Gestacional.....	5
4.1.1 Definición.....	5
4.1.2 Fisiopatología.....	6
4.1.3 Factores de riesgo.....	6
4.1.4 Consecuencias.....	7
4.2 Teoría DOHaD.....	8
4.3 Microbiota.....	9
4.3.1 Definición.....	9
4.3.2 Composición y formación.....	9
4.3.3 Funciones y relación con la salud.....	11
4.3.4 Relación microbiota – diabetes gestacional.....	11
5.- Metodología.....	12
5.1 Criterios de inclusión.....	12
5.2 Criterios de exclusión.....	12
5.3 Criterios de eliminación.....	13
5.4 Extracción de ADN .....	13
5.5 Secuenciación de ADN .....	13
5.6 Análisis estadístico.....	13
6.- Actividades realizadas.....	14
7.- Objetivos y metas alcanzadas.....	14
8.- Resultados y discusión.....	15
9.- Conclusión.....	18
10.- Recomendaciones.....	19
11.- Bibliografía.....	20

## **1.- INTRODUCCIÓN**

La diabetes mellitus gestacional (DMG) en población mexicana está aumentando debido a la gran cantidad de casos de obesidad, resistencia a la insulina o diabetes mellitus tipo II. La prevalencia actual se estima entre el 8.7 y el 17.7%, lo que ha generado mayor interés en el estudio de lo que la causa, así como las consecuencias de padecerla.

Un aspecto que se está estudiando es su estrecha relación con la microbiota intestinal, debido a que cursar con una patología como esta podría alterar su composición en mayor medida. La microbiota de la mujer es transmitida al bebé, por lo que existe la teoría de que este hecho podría ser el origen del desarrollo de enfermedades crónicas no transmitibles (ECNT) como obesidad o diabetes, esto con base en la teoría DOHaD donde se afirma que los primeros mil días de vida, incluyendo el ambiente intrauterino, son una ventana de oportunidad para prevenir estas enfermedades o por el contrario para predisponerlas.

Por ello, en este estudio se analizó la microbiota intestinal de dos grupos de niños menores de 3 años, residentes en Ciudad de México; un grupo provenientes de madres que tuvieron DMG y otro en el que no la tuvieron. Se obtuvieron 190 muestras fecales de las que se extrajo el ADN microbiano y se secuenció para conocer su taxonomía. Además, tanto a mujeres como a sus hijos se les evaluaron características clínicas, antecedentes y patrones dietéticos, mediante cuestionarios.

Los principales hallazgos fueron una disminución de Firmicutes, mayor presencia de Bacteroidetes y Proteobacterias y un incremento significativo de Desulfovibrionaceae en el grupo que presentó diabetes gestacional, por lo tanto, presentar esta patología podría ser causa de disbiosis intestinal y a su vez factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades metabólicas.

## **2.- OBJETIVOS**

### **2.1 General:**

Comparar la microbiota intestinal entre dos grupos de niños menores de 3 años nacidos de madres con y sin diabetes gestacional.

### **2.2 Específicos:**

-Determinar la prevalencia de diabetes gestacional a nivel nacional y mundial, así las causas para desarrollarla, por medio de estudios previos para identificar si la población de este estudio coincide con esas características.

-Conocer la fisiopatología de la diabetes gestacional con fuentes bibliográficas para conocer el efecto que tiene en la salud materna e infantil.

-Analizar los factores dietéticos, antecedentes y características clínicas a través pruebas estadísticas en el programa SPSS para comparar entre grupos y conocer si hay una asociación.

-Comparar la microbiota intestinal de niños provenientes de mujeres con y sin presencia de diabetes gestacional, mediante secuenciación de ADN, para conocer si existen diferencias.

-Analizar la diversidad existente en la microbiota intestinal de ambos grupos con fuentes documentales para conocer sus funciones y cómo se relacionan con la presencia de enfermedades metabólicas.

### **3.- JUSTIFICACIÓN**

A nivel mundial la prevalencia de diabetes gestacional va del 1 a >30%, esto varía dependiendo de la población estudiada (1). Su incidencia en América Latina va del 15 al 25% (2) y en población mexicana se aproxima que la prevalencia está entre un 8.7% y 17.7%, aunque la información no es suficiente, ya que no existe un diagnóstico preciso. Por otra parte, la International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) reporta que en México es mayor al 30%. (3)

Algunas de las consecuencias más comunes son la presencia de macrosomía en los fetos, hipoglucemia neonatal, hipocalcemia, policitemia, hiperbilirrubinemia, entre otras que aumentaran sus posibilidades a tener obesidad, dislipidemias y diabetes en la etapa adulta. De igual manera es un factor de riesgo para las mujeres que cursaron su embarazo con esta, ya que en un periodo aproximado de 5 años posteriores es muy probable que se desarrolle diabetes mellitus tipo II. (4).

Por otra parte, se ha propuesto que el origen de algunas enfermedades crónicas no transmitibles empieza en el ambiente intrauterino. La teoría DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) refiere que existe una asociación entre un ambiente adverso desde los inicios de la vida y el desarrollo posterior de enfermedades como la obesidad, diabetes, algunos tipos de cáncer, entre otras que son responsables del 60% de las muertes en el mundo. (5)

Existe una estrecha relación entre la composición de la microbiota intestinal (MI) y la diabetes gestacional. La formación de la microbiota inicia desde la vida uterina pues se ha demostrado la presencia de diversas

bacterias de predominio intracelular en la placenta. (6) Es primordial el estudio de la microbiota, ya que juega un papel crítico en el control de peso, la homeostasis energética, fermentación, absorción de carbohidratos no digeribles y el desarrollo de resistencia a la insulina (IR), por lo tanto, participa en la patogénesis de diversas alteraciones metabólicas (7).

Su relación con diabetes gestacional consiste en que durante el embarazo el perfil de la microbiota se modifica. Durante el periodo de gestación la carga bacteriana aumenta en el intestino, la cantidad de bacterias productoras de ácido láctico incrementa y la diversidad bacteriana disminuye con la obesidad y la resistencia a la insulina. Así mismo, participa en la regulación de la inmunidad innata y adaptativa, por lo que tiene una estrecha influencia en la inflamación. (8)

Por esta razón, es conveniente investigar en población mexicana sobre la influencia que tiene la diabetes gestacional en la microbiota intestinal del recién nacido, conocer los hábitos y patrones alimentarios de las mujeres ya que la alimentación tiene un papel importante para la composición de esta y reconocer si hay parámetros que dentro de las primeras etapas de vida indiquen una mayor susceptibilidad a padecer alguna de las enfermedades relacionadas y por consiguiente a largo plazo pueda ser un factor clave para la prevención.

#### **4.- MARCO TEÓRICO**

##### **4.1 Diabetes Gestacional**

###### **4.1.1 Definición**

La diabetes mellitus gestacional (DMG) es una complicación común durante el embarazo, es un tipo de diabetes que se define como una hiperglicemia sostenida, de cualquier severidad y que específicamente se presenta y se detecta por primera vez durante la gestación. (2)

###### **4.1.2 Fisiopatología**

El embarazo es considerado un estado diabetogénico donde aparecen diversos cambios fisiológicos como de tipo cardiovascular, renal, hematológico, respiratorio y metabólico, que ocurren para mantener un equilibrio entre la madre y el feto. Específicamente, uno de estos cambios es la alteración en el metabolismo de la glucosa, ya que se busca asegurar el suministro de esta para el desarrollo fetal. Por esta razón, se presenta una disminución de glucosa en la circulación de la madre, principalmente en estados de ayuno, mientras que hay un aumento significativo en estados posprandial, así como una mayor resistencia a la insulina.

La sensibilidad a la insulina va disminuyendo en el transcurso del embarazo debido a que hay un descenso de la hormona de crecimiento, mientras que en la unidad fetoplacentaria aumentan los niveles de lactógeno placentario sérico, la hormona de crecimiento placentaria, progesterona, cortisol, prolactina, entre otros, que en conjunto contribuyen a una mayor resistencia a la insulina.

Además, también se presenta una alteración en la secreción de mediadores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , interferón  $\gamma$ , interleucina 2, y el factor de necrosis tumoral  $\beta$ . Así mismo, la producción de leptina, hormona producida en el tejido adiposo y que actúa como señal de saciedad, se ve afectada por la prolactina que es capaz de conducir a su resistencia. Todo en conjunto, son factores de riesgo que pueden llevar a la mujer a desarrollar diabetes gestacional. (9)

#### 4.1.3 Factores de riesgo

Los factores de riesgo que más se han asociado con la presencia de DMG son tener sobrepeso u obesidad (BMI  $\geq 25$ ), tener antecedentes heredofamiliares de diabetes o antecedentes de diabetes o prediabetes previamente al embarazo y tener una edad materna avanzada (10).

Otros factores menos comunes son la etnicidad, donde se ha hecho énfasis en el alto riesgo que existe para población latinoamericana (4), la exposición a factores ambientales como éteres de polibromodifenilo (PBDEs) y el ácido perfluorooctanoico que actúan como disruptores endócrinos, factores psicosociales como padecer depresión y los factores genéticos que actualmente son un campo de estudio muy amplio y de gran importancia para la detección y tratamiento de esta patología.

A pesar de la gran variedad de causas por las que se puede presentar diabetes gestacional, el estilo de vida como la alimentación, la actividad física y otros factores modificables, son la principal razón por la que se desarrolla. Algunos aspectos dietarios a los que se ha asociado; son las concentraciones bajas de vitamina D y C, así como un aumento en el consumo de grasa durante las etapas tempranas del embarazo.

Además, un estilo de vida dentro de la cultura occidental donde la dieta predomina por ser alta en bebidas azucaradas, comida rápida, harinas procesadas y un exceso de carnes rojas y embutidos, se considera un factor de alto riesgo, a diferencia de consumir una dieta de estilo mediterránea; rica en vegetales, nueces, frutas, pescado y cereales integrales, que actúa como un factor protector durante el embarazo que es un estado diabetogénico. Asimismo, se ha demostrado que se podrían prevenir hasta el 45% de los casos de DMG si las mujeres se mantuvieran con un IMC  $< 25$ , si se ejercitaran por  $\leq 30$  minutos al día y si evitaran fumar tabaco. (1)

#### 4.1.4 Consecuencias

Conocer las principales causas que conducen a esta enfermedad es importante para su detección y tratamiento, así como para la prevención de las consecuencias que se pueden generar. Las afectaciones recaen tanto para la mujer y para el feto, en corto y largo plazo.

En cuanto a las mujeres, los efectos más frecuentes a corto plazo son experimentar complicaciones relacionadas al embarazo como parto pretérmino, preeclampsia, cesáreas y una mayor posibilidad de depresión prenatal. A largo plazo, el 60% de las mujeres con DMG, desarrollarán diabetes tipo II en años posteriores, aumentando sus posibilidades entre el 2 y el 3% año con año. Igualmente, están predispuestas a enfermedades cardiovasculares, incrementando su riesgo 63% más que las que no tuvieron.

Respecto al feto, a causa del aumento en el transporte placentario de glucosa, aminoácidos y ácidos grasos se estimulará una mayor producción de insulina y del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) por lo que favorecerá a un sobre crecimiento conocido como macrosomía, lo que es un riesgo para presentar distocia de hombros, cuando uno o ambos hombros quedan atascados en la pelvis de la madre durante el trabajo de parto, razón por la que las mujeres con DMG frecuentemente son sometidas a cesáreas.

Además, el exceso de producción de insulina fetal puede estresar el desarrollo de las células  $\beta$  pancreáticas y por lo tanto conducir a una disfunción de estas y a una resistencia a la insulina incluso antes de nacer. Una vez que nacen, corren alto riesgo de hipoglicemia que podría generar daño cerebral de no ser atendida a tiempo.

En cuanto a las consecuencias a largo plazo, durante la infancia, tienen el doble de posibilidades de desarrollar obesidad infantil a comparación con los niños que provienen de madres sin diabetes gestacional, así como que se les detecte intolerancia a la glucosa desde los cinco años. En la edad adulta es altamente probable que desarrollen enfermedades metabólicas como obesidad, diabetes mellitus tipo II, enfermedades cardiovasculares, entre otras. Este hecho, ha generado muchas preguntas sobre el origen de las enfermedades metabólicas, por ejemplo, la teoría que sugiere que el origen comienza desde la vida intrauterina. (10)

#### 4.2 Teoría DOHaD

Existen tres etapas críticas en el desarrollo de los seres humanos: el crecimiento intrauterino, la lactancia y los dos primeros dos años de vida. Se han identificado a estos periodos como ventanas epigenéticas y condicionantes de riesgo para el origen de enfermedades metabólicas. La relación entre las enfermedades

y estas etapas radica en mecanismos moleculares que modifican el ADN sin cambiar su secuencia, conocidos como mecanismos epigenéticos que originan una programación metabólica, fundamento principal de la teoría de los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHaD).

Dicha teoría fue descrita en la década de los ochenta por el Dr. David Barker y sugiere que en el período preconcepcional (maduración del gameto, fertilización y desarrollo embrionario) somos vulnerables a distintos factores que producen respuestas adaptativas, estas tendrán gran impacto principalmente en “los primeros mil días de vida” y pueden manifestarse en la adultez, por ejemplo, las enfermedades crónicas no transmisibles relacionadas con el síndrome metabólico. Algunos de estos factores pueden ser alteraciones en la nutrición materna (desnutrición o sobrealimentación) o la exposición a hormonas esteroideas, estrés, patologías durante el embarazo (diabetes gestacional, preeclampsia, enfermedades virales o bacterianas), toxinas, hipoxia, o al abuso de alcohol, nicotina o drogas. (5)

Los principales mecanismos epigenéticos que regulan la expresión de genes en mamíferos son, la metilación del ADN en la base citosina, modificaciones covalentes (acetilación y metilación) en aminoácidos de las histonas y los RNA no codificantes como los microRNAs (miRNAs). (11). Durante las primeras etapas de la vida hay una mayor susceptibilidad de tener modificaciones epigenéticas, lo que se conoce como plasticidad fetal. Estas modificaciones provocarán efectos en el desarrollo del individuo y puede transmitirse a las siguientes generaciones; generalmente están asociadas a factores ambientales como la nutrición, por ello, es una etapa de oportunidades donde se puede promover tener una mejor salud para toda la vida. (5)

Esta teoría abrió un amplio interés en estudiar disciplinas relacionadas con la exposición a factores ambientales. Un aspecto que se ha estudiado mucho en la última década es el rol de la microbiota intestinal y su asociación con la presencia de enfermedades metabólicas.

## **4.3 Microbiota**

### **4.3.1 Definición**

Al conjunto de microorganismos vivos incluidos bacterias, levaduras, virus, entre otros, se le conoce como microbiota, y se distingue entre sí por el sitio donde se localiza como el intestino, piel, pulmones, cavidad oral o vaginal. (12). Gracias al avance de la biología molecular, hoy se pueden identificar estos microorganismos con base en su huella génica, así como las funciones que pueden realizar.

Para ello, se comienza extrayendo el ADN, se amplifica y se secuencian los genes que codifican para la subunidad 16s del ARN ribosomal. Esta molécula está presente en todas las bacterias y contiene nueve regiones altamente variables, por lo que es considerada fundamental para la identificación bacteriana ya que permite su caracterización taxonómica pudiendo discernir hasta nivel género y en algunos casos hasta especie. (13).

#### 4.3.2 Composición y formación

La microbiota del intestino es la que tiene mayor diversidad bacteriana y la más relacionada con el mantenimiento de nuestra salud. La microbiota intestinal se compone en su mayoría de seis filos, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria y Verrucomicrobia. Estas cumplen con múltiples funciones, entre las que se destacan, la fermentación de alimentos, protección contra patógenos, estimular la respuesta inmunológica y producción de vitaminas. (12)

Valero (14), afirma que existen dos clasificaciones de la microbiota, la residente que comprende las características de cada una de las regiones del organismo y los microorganismos que siempre residen en esa ubicación en específico, por ejemplo, E. coli en el intestino. Y la microbiota transitoria que puede variar de humano a humano y estas bacterias están intermitentemente en alguna región.

La composición de la microbiota dependerá de diferentes factores a lo largo de la vida, como genéticos, dietéticos, la edad, entre otras interacciones con el medio ambiente. (13) Se ha demostrado que la primera colonización se da en el nacimiento, por lo que el tipo de parto ya sea vaginal o cesárea, determinará el tipo de bacterias que tendrá en las primeras etapas de vida.

Sin embargo, existe una gran controversia ya que, por muchos años se asumió que tanto el feto como la placenta son completamente estériles, pero desde el 2014 algunos investigadores afirman que sí hay presencia de bacterias en el tejido placentario, con el estudio de la Dra. Aagaard y esta idea se fortaleció más con el estudio del neonatólogo Josef Neu donde encontró ADN bacteriano en el meconio de recién nacidos.

Estos hallazgos, sugieren que el microbioma neonatal puede construirse desde antes del nacimiento, por lo que las bacterias formarían parte del embarazo e incluso modular la formación del sistema inmune y el cursar con una patología como la diabetes gestacional podría tener alguna implicación para el recién nacido. (15).

Por otra parte, el tipo de parto será también importante para la composición bacteriana, ya que, cuando se trata de un parto vaginal, el neonato pasa a través del canal de parto materno donde adquiere la microbiota de la madre, que por lo general se compone de bacterias ácido-lácticas, específicamente *Lactobacillus*, *Prevotella* y *Sneathia spp.* (16)

Posteriormente, el proceso continúa con el inicio de su interacción con factores dietéticos, influyendo altamente el hecho si el recién nacido recibe lactancia materna o no. Los filos bacterianos que comúnmente se han encontrado en la leche materna son Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria y Proteobacteria. (15)

Los patrones de alimentación pueden afectar a la abundancia de grupos específicos de bacterias, por ejemplo, los fucosil-oligosacáridos de la leche materna pueden ser utilizados por *Bifidobacterium longum* y otras especies de *Bacteroides*, compitiendo por el espacio con otras bacterias como *E. coli* y *Clostridium perfringens*. Por el contrario, los niños alimentados con fórmulas tienen una menor diversidad bacteriana y niveles alterados de grupos como *E. coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis* and *Lactobacillus*. (17)

Después de los tres años y durante la adultez, la microbiota se estabiliza. Sin embargo, un factor importante para su composición es el consumo de fibra ya que, con esta, la microbiota tiene la capacidad enzimática para producir AGCC. La fibra es un conjunto de carbohidratos no digeribles por el humano. Se clasifican en insolubles, que son aquellas sustancias poco fermentables y contribuyen a la formación y tránsito de heces; y las solubles que son altamente fermentables por bacterias y generadoras de AGCC. A los alimentos ricos en fibra, generalmente se les conoce como prebióticos. (6)

#### 4.3.3 Funciones y relación con la salud

La importancia de los sustratos producidos por la microbiota se debe a cada una de sus funciones y la relación que tienen con la salud. Por ejemplo, los AGCC son absorbidos por células epiteliales en el tracto intestinal y estos son usados en la regulación de múltiples procesos celulares como la expresión de genes, quimiotaxis, diferenciación, proliferación y apoptosis.

Otras de sus características son su actividad antiinflamatoria y anticancerígena, además de ser unas de las principales fuentes de energía para los colonocitos del intestino por lo que puede prevenir la traslocación bacteriana. También participan en la homeostasis de los lípidos hepáticos y la glucosa; en el hígado, el propionato puede activar el proceso de gluconeogénesis, en tanto que el acetato y butirato son lipogénicos. Son reguladores del sistema inmune promoviendo la secreción de citocinas, modulan la

regulación del apetito y la ingesta de energía, además, el propionato está asociado con beneficios en las células B y con la reducción de la conducta alimentaria basada en recompensas.

Por otra parte, otras funciones relevantes por parte de las bacterias, es la producción de vitaminas como la K y del grupo B a partir de *Bifidobacterias*. Todas estas funciones influyen en la salud del huésped y han sido relacionadas con el desarrollo de enfermedades metabólicas. (17).

#### 4.3.4 Relación microbiota-diabetes gestacional

Hoy se sabe que la composición de la microbiota puede influir en desarrollar diabetes gestacional, pero también la presencia de DG puede modificar la composición de esta. Principalmente su relación se basa en que la microbiota intestinal determina la resistencia a la insulina y la inflamación durante el embarazo.

Algunas de las modificaciones en la composición bacteriana durante el embarazo conllevan al desarrollo de DMG, por ejemplo, se ha identificado una correlación positiva entre la insulina y *Collinsela*, polipéptidos gastrointestinales y *Coprococcus*, y adipocinas con *Ruminococcaceae* y *Lachnospiraceae*.

También se ha identificado que las mujeres con DMG podrían tener menor abundancia de bacterias productoras de AGCC quienes juegan un papel muy importante en el metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la insulina. Así mismo, se ha encontrado que en los hijos de mujeres que presentaron la patología tuvieron una menor diversidad  $\alpha$  en su microbiota intestinal. (12).

## 5.- METODOLOGÍA

Este es un estudio observacional de tipo casos y controles en el que se reclutó la información de 200 mujeres mexicanas y sus hijas o hijos con edad de 0 hasta 36 meses y con o sin diagnóstico de diabetes gestacional. Dicha población se obtuvo de pacientes del Centro de Salud (C. S. T III) "Dr. Gabriel Garzón Cossa" ubicado en la Alcaldía Gustavo A. Madero de la Ciudad de México. Los criterios que se tomaron en cuenta fueron los siguientes:

### 5.1 Criterios de inclusión

- Mujeres
- Residentes en Ciudad de México
- Con hijos o hijas de 0 a 36 meses de edad
- Consentimiento informado firmado sobre su participación y la de su bebé

## 5.2 Criterios de exclusión

- Niños que hayan consumido antibióticos en los 3 meses anteriores a la toma de la muestra.
- Mujeres con hábitos de tabaquismo, alcoholismo u otra sustancia nociva para la salud.
- Mujeres se le haya diagnosticado diabetes tipo I o II antes del embarazo.
- Niños con alguna patología que requiera medicación o tratamiento especial, como nefropatías, enfermedades autoinmunes, cardiopatías, endocrinopatías o síndromes de etiología genética.

## 5.3 Criterios de eliminación

- Participantes que no se tenía su historia clínica
- Participantes que no se encontró la muestra de heces.

Al filtrar los datos se concluyó con una población de 190 participantes. Se les realizó una entrevista para la creación de una historia clínica que proporcionara información demográfica, datos sobre el embarazo, si dieron lactancia materna, así como la aplicación de un cuestionario de frecuencia de alimentos y un recordatorio de 24hrs donde brevemente describieran sus patrones de alimentación tanto de la mamá como del bebé.

Se solicitó a las mamás una muestra de 200 µg de las heces fecales de sus hijos o hijas las cuales se tomaron desde los pañales. Una vez recolectada la muestra, se almacenaron a 4°C dentro de hieleras y en un plazo no mayor a 24 horas, se colocaron en microtubos y se guardaron a -74°C en las instalaciones del INMEGEN, UNAM.

## 5.4 Extracción de ADN bacteriano

Las muestras fecales de 200µg fueron procesadas mediante el kit QIAamp Power Fecal Pro-DNA que en general consiste en desactivar nucleasas, precipitar impurezas y extraer el ADN. Posteriormente, se evaluó su integridad a través de la técnica de electroforesis con un gel de agarosa al 2%, corriéndolo a 60W por 60minutos. Para la lectura de sus pares de bases, se obtuvieron las imágenes con el programa ImageLab. Después para conocer su concentración se utilizó el espectrofotómetro NanoDrop con una absorbancia de 260/280 y 260/230.

## 5.5 Secuenciación de ADN bacteriano

Se amplificó la región V3 del gen 16s rRNA de cada una de las muestras con la técnica de PCR punto final y para la secuenciación se llevaron las muestras a la Unidad de Alta Tecnología “uSec” ubicada en INMEGEN, en la que se utilizó Illumina MiSeq System.

#### 5.6 Análisis estadístico

Se realizó una base de datos usando el programa IBM SPSS. Para el análisis de datos demográficos, características clínicas y datos dietéticos se usaron pruebas T para muestras independientes con el objetivo de encontrar diferencias entre los grupos, usando un valor de  $P < 0.05$  como diferencia significativa.

#### 6.- ACTIVIDADES REALIZADAS

- Búsqueda y lectura de bibliografía
- Aprendizaje de técnica de extracción y purificación de ADN microbiano
- Aprendizaje de técnica de electroforesis
- Aprendizaje de técnica de PCR
- Vaciamiento de los expedientes clínicos en una base de datos
- Análisis de datos
- Elaboración de tablas de resultados
- Análisis de resultados y discusión

#### 7.- OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS

Objetivo	Meta alcanzada
Conocimiento del tema con bibliografía	Se conoció la prevalencia en México y se comparó con la muestra estudiada, se comprendió la fisiopatología de la diabetes gestacional, sus factores de riesgo, sus efectos y posibles soluciones.
Aprendizaje de técnicas de biología molecular	Se logró conocer la composición de la microbiota mediante su ADN. Se practicaron las técnicas extracción de ADN, electroforesis en gel de agarosa, uso de espectrofotómetro y PCR.
Análisis estadístico	Se pudo hacer la comparación de los datos, así como encontrar asociaciones con los patrones dietéticos. Se utilizaron medidas de tendencia

	central y pruebas T para muestras independientes.
Análisis de resultados	Se pudo hacer la comparación bacteriana y se pudo determinar que cursar diabetes gestacional sí es un hecho que influye en la microbiota de los neonatos, lo que será un factor de riesgo para desarrollar enfermedades metabólicas.

**8.- RESULTADOS Y CONCLUSIONES**

Se incluyó como parte de la población de estudio a un total de 190 mujeres y sus bebés, de las cuales 171 tuvieron un embarazo normal y 19 presentaron diabetes gestacional, es decir, un 10% de la población, lo que concuerda con la prevalencia actual de DMG en México que se estima entre el 8.7 % y 17.7%. (3)

Las características de las mujeres se presentan en la Tabla 1. Se obtuvieron diferencias significativas respecto a la edad en el embarazo; en el grupo que sí presentaron DMG su promedio es de 30 años a comparación con el grupo control que es 25. Si bien no es un factor determinante, la edad durante la gestación es uno de los principales factores de riesgo y se ha encontrado una asociación de que, a más edad, más posibilidades de presentar esta patología (18).

Por otra parte, se encontró una diferencia en las semanas de gestación; 39 semanas el grupo control y 37 el grupo con la patología. Ambos se encuentran dentro de lo que se denomina “embarazo a término” lo que indica un desarrollo completo y seguro, sin embargo, existe una subclasificación denominada “a término completo” que comprende de la semana 39 y 40 donde los neonatos corren menos riesgo de tener problemas con su respiración, alimentación o el control de su temperatura (19). Por lo tanto, el grupo que presenta una media de 37 semanas de gestación tendría más probabilidades de tener alguna morbilidad.

Además, aunque no fue significativa la diferencia, se observa en este mismo grupo que la forma de parto que tuvieron con más frecuencia fue el de tipo cesárea a comparación con el parto vaginal. Es relevante ya que, una de las complicaciones más reportadas es la macrosomía fetal, la cual puede conducir a partos prolongados, cesáreas, hemorragia posparto y desgarres vaginales. (2)

Respecto al Índice de Masa Corporal, se observa una diferencia significativa entre los grupos, ya que, el primer grupo obtuvo una media de 24 por lo que se mantiene dentro de los valores recomendados de

acuerdo con la OMS o catalogado como “Peso normal”, mientras que el grupo que sí presentó DMG, su promedio está en 26, es decir, dentro de la categoría “Sobrepeso”. El estado nutricional en el que se encuentra la mujer antes del embarazo es crucial y el tener sobrepeso u obesidad (IMC >25) es el factor de riesgo más importante para desarrollar diabetes gestacional. (1).

Tabla 1: Características clínicas de las mujeres.

	<b>SIN DMG (n=171)</b>	<b>CON DMG (n=19)</b>	<b>P value</b>
Edad en el embarazo en años	25± 6.72	30 ± 6.92	.003*
Semanas de gestación	39 ± 2.15	37± 3.37	.001*
Parto	93 (54.38%)	8 (42.10%)	-
Cesárea	78 (45.61%)	11 (57.84%)	-
IMC pregestacional	24± 2.81	26 ± 5.09	.022*
Uso de antibióticos	47 (27.48%)	7 (36.84%)	-

Características clínicas de las mujeres con y sin diabetes gestacional en frecuencias y promedios. DMG, Diabetes Mellitus Gestacional; ± DE, Desviación Estándar; P value calculado con prueba T para muestras independientes. P <0.05 se consideró como significativamente diferentes. \* Diferencias significativas.

De acuerdo con las características de los niños (Tabla 2), también se dividió la información en los grupos con y sin diabetes gestacional. Se tomaron criterios como peso, talla, peso por grupo de edad, si tuvieron lactancia materna, el APGAR obtenido al nacer, si se les había vacunado, uso de antibióticos y si consumían suplementos.

El criterio en el que sí se observan diferencias significativas, es en el peso del grupo de edad 0 a 3 meses, es decir, en los recién nacidos; donde el grupo proveniente de mamás con diabetes gestacional reportó un peso mayor (4.876kg) a comparación con el control (3.756kg) siendo una diferencia aproximadamente de 1.12kg y que coincide con uno de los riesgos fetales más comunes en esta patología, el exceso de peso y adiposidad al nacer (1). Sin embargo, en el criterio de peso al nacer donde se abarca a toda la muestra, no se observa alguna diferencia y tampoco en los demás grupos de edad, por lo tanto, la población de este estudio es muy similar y no tendría ningún sesgo para la comparación de su microbiota.

Tabla2: Características clínicas de los niños.

	<b>SIN DMG (n=171)</b>	<b>CON DMG (n=19)</b>	<b>P value</b>
Peso al nacer	3050g ± 602.07	2920g ± 829.29	.392
Talla al nacer	50cm ± 3.87	48cm ± 4.12	.194
Peso $\bar{X}$ por grupo de edad			
0 a 3 meses	3756 ± 989	4876 ± 1513	.020*
4 a 6 meses	7039 ± 1529	6350 ± 919	.551

7 a 12 meses	8124 ± 1322	8048 ± 1135	.889
13 a 35 meses	10265 ± 2118	9874 ± 1927	.695
Lactancia materna	164	17	
Sin lactancia materna	7	2	
APGAR	8.7 ± 1.64	8.5 ± .89	.402
Pentavalente	99	15	
Antibióticos	74	12	
Suplementos	41	10	

Características clínicas de los niños provenientes de madres con y sin diabetes gestacional en frecuencias y promedios. Diabetes Mellitus Gestacional; ± DE, Desviación Estándar;  $\bar{X}$ , Promedio; P value calculado con prueba T para muestras independientes.  $P < 0.05$  se consideró como significativamente diferentes. \* Diferencias significativas.

Sobre los antecedentes heredofamiliares en relación a una patologías o estado nutricio, se tomaron en cuenta a los más cercanos, es decir, madre, padre, hermanas o hermanos, abuelas y abuelos tanto maternos como paternos. Con ello se señala el porcentaje de niños que reportan tener uno o más familiares que presentan la condición en cada fila. (Tabla 3).

Del grupo que presentó diabetes gestacional, el 95% tiene al menos un familiar con sobrepeso y el 47% con obesidad, con hipertensión el 63% y el 100% antecedentes de diabetes mellitus tipo II, lo que nos indica que el factor hereditario tiene gran peso para el desarrollo de la enfermedad, y coincide con el estudio de Bauzá et al, (18) donde de una población de 180 participantes, 137 reportaron tener familiares con antecedentes.

Tabla 3: Antecedentes familiares de los niños.

	SIN DMG (n=171)	CON DMG (n=19)
Sobrepeso	50%	95%
Obesidad	31%	47%
Diabetes tipo II	48%	100%
Hipertensión	51%	63%

Porcentaje de la población que presentaron uno más familiares con antecedentes.

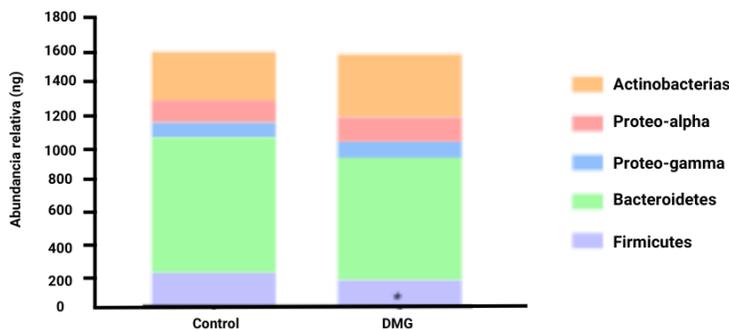
En relación con la microbiota, sí se observaron diferencias significativas en la composición de ambos grupos (Fig.1). En el grupo de los provenientes de mamás con diabetes gestacional, se muestra una disminución de abundancia en los filos Bacteroidetes y Firmicutes mientras que los filos Actinobacteria y Proteobacteria mostraron un aumento.

El papel de los Firmicutes es muy importante, pues algunos géneros de bacterias pertenecientes a este filo, por ejemplo, *Faecalibacterium* y *Roseburia* son productores de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y estos son reguladores del metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la insulina. Los AGCC pueden unirse al receptor de ácidos grasos libres FFAR2 o FFAR3 en las células L intestinales, y esto estimulará la secreción del péptido similar a glucagón 1 (GLP-1) y el péptido YY que promueven la producción de insulina y reducen la producción de glucagón. (12) Sin embargo, otros estudios muestran que los géneros como *Rothia* (*Actinobacteria*) y *Clostridium sensu stricto* (*Firmicutes*) pueden ser patógenos y generar infecciones o desórdenes metabólicos en la infancia. (20). Por otra parte, la abundancia de Bacteroidetes con especies como *Prevotella copri* y *Bacteroides vulgatus* están asociados a fenotipos de insulino resistentes. (21)

Además, otro hallazgo a partir del análisis LEfSe indicó un incremento significativo en *Desulfovibrionaceae* en este grupo en comparación con el grupo de control. Uno de los géneros pertenecientes a esta familia de bacterias es el *Desulfovibrio* que su abundancia está altamente asociada con distintas enfermedades como diabetes mellitus tipo II y diabetes gestacional. (22)

Estos resultados sugieren la presencia de disbiosis en hijos o hijas de mujeres que desarrollaron diabetes gestacional y, por lo tanto, los hace más susceptibles a padecer esta u otras enfermedades metabólicas en un futuro.

**Figura 1:** Abundancia de filos bacterianos



**Fig. 1** Se muestra la abundancia relativa en ng de *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacterias*  $\alpha - \gamma$  y *Actinobacterias*, en los grupos sin y con DMG.

## 9.- CONCLUSIÓN

Al comparar la microbiota de los niños provenientes de mujeres que cursaron su embarazo con diabetes gestacional y otro grupo control que no tuvieron la patología, encontramos que sí hay una asociación. Se observa principalmente que el microbiota intestinal de los niños cuyas mamás tuvieron diabetes gestacional se compone de menor cantidad de bacterias de los filos *Bacteroidetes* y *Firmicutes*.

Generalmente, cuando hay una dieta rica en carbohidratos simples, estos son absorbidos y consumidos en el intestino delgado, mientras que los carbohidratos complejos como polis y oligosacáridos tienen que ser metabolizados en el colon por bacterias que tengan esta función, ya que los humanos no poseen las enzimas necesarias para esta función.

En condiciones buenas de salud, la microbiota se encarga de fermentar las fibras no digeribles y producen AGCC. Por lo regular, el filo *Firmicutes*, especialmente *Faecalibacterium*, *Roseburia* y *Bifidobacterium*, producen butirato, en tanto que los *Bacteroidetes* producen acetato y propionato. Estos son importantes para la obtención de energía y la homeostasis de la glucosa. La cantidad y tipo dependerán en gran medida de la alimentación, especialmente si hay consumo de fibra dietética. (23)

Por esta razón, es congruente encontrar una disminución de estos filos en la microbiota de personas que tienen alguna alteración en el metabolismo de la glucosa y la resistencia a la insulina. De esta forma, cuando la madre transmite la microbiota alterada a su hijo se convierte en un factor de riesgo para desarrollar diabetes u otras patologías relacionadas al síndrome metabólico, en especial porque en los primeros mil días de vida, los individuos son vulnerables a modificaciones epigenéticas.

## **10.- RECOMENDACIONES**

Considero que se debe investigar más sobre el rol de la dieta de las participantes, para ello es importante la participación de nutriólogos calificados que apliquen instrumentos con los que se pueda obtener más a detalle un panorama de su alimentación. También el diseño de la historia clínica puede ser mejorado, cambiando la redacción de algunas preguntas y al aplicar los instrumentos para conocer los patrones dietéticos, realizar cálculos más específicos que puedan ser usados en una base de datos para un análisis estadístico más exacto.

## 11.- BIBLIOGRAFÍA

1. McIntyre HD, Catalano P, Zhang C, Desoye G, Mathiesen ER, Damm P. Gestational diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers* 2019;5(1):1–19. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41572-019-0098-8>
2. Perachimba Carvajal DN, Moran Vasquez MM, Alcocer Díaz S. Diabetes Gestacional en Mujeres de América Latina: epidemiología y diagnóstico. *MQRInvestigar* 2023;7(1):852–93. Disponible en: <https://www.investigarmqr.com/ojs/index.php/mqr/article/view/195>
3. Benítez-Guerrero T, Vélez-Ixta J, Juárez-Castelán C, Corona-Cervantes K, Piña-Escobedo A, Martínez-Corona H, et al. Gut Microbiota associated with gestational health conditions in a sample of Mexican women. *Nutrients* 2022;14(22):4818. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36432504/>
4. Pérez O, Saba T, Padrón MA, Molina V. R. DIABETES MELLITUS GESTACIONAL. *Rev Soc Venez Endocrinol Metab* 2012;10(1):22–33. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375540232005>
5. Subcomisión DOHaD – SAP “Origen de la Salud y Enfermedad en el Curso de la Vida” – Sociedad Argentina de Pediatría. Concepto de Developmental Origins of Health and Disease: El ambiente en los primeros mil días de vida y su asociación con las enfermedades no transmisibles. *Arch argent pediatr.* 2020; s118–29. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1118605>
6. Merino Rivera JA, Taracena Pacheco S, Díaz Greene EJ, Rodríguez Weber FL. Microbiota intestinal: “el órgano olvidado”. *Acta méd. Grupo Ángeles* 2021; 19( 1 ): 92-100. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.phpscript=sci\\_arttext&pid=S187072032021000100092&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.phpscript=sci_arttext&pid=S187072032021000100092&lng=es).
7. Cortez RV, Taddei CR, Sparvoli LG, Ângelo AGS, Padilha M, Mattar R, et al. Microbiome and its relation to gestational diabetes. *Endocrine* 2019;64(2):254–64. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30421135/>
8. Morais J, Cardoso M, Branco J, Marques C, Teixeira D, Faria A et al. Gestational Diabetes and Microbiota: role of probiotic intervention. *Acta Port Nutr.* 2018; (13): 22-26. Disponible en: [http://scielo.pt/scielo.phpscript=sci\\_arttext&pid=S218359852018000200004&lng=pt](http://scielo.pt/scielo.phpscript=sci_arttext&pid=S218359852018000200004&lng=pt)
9. Torres WPR, Juez AEM, González JLG, Barzola CVR, Vélez DGS, Torres DAR, et al. Diabetes gestacional: fisiopatología, diagnóstico, tratamiento y nuevas perspectivas. *AVFT* 2018; 37(3). Disponible en: [http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_aavft/article/view/15629](http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_aavft/article/view/15629)
10. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH. The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(11):3342. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms19113342>
11. Aguilera Méndez A. La nutrición materna y la programación metabólica: el origen fetal de las enfermedades crónicas degenerativas en los adultos. *CIENCIA ergo-sum* 2020; v. 27, n. 3 ISSN 2395-8782. Disponible en: <https://cienciaergosum.uaemex.mx/article/view/12499>
12. Hou K, Wu Z-X, Chen X-Y, Wang J-Q, Zhang D, Xiao C, et al. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther* 2022; 7(1):1–28. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41392-022-00974-4>
13. Suárez Moya A. Microbioma y secuenciación masiva. *Rev esp quimioter* 2017; 305–11. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-167146>

14. Valero Y, Colina J, Herrera H. La microbiota intestinal y su rol en la diabetes. *An Venez Nutr* 2015; 28(2 ): 132-144. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-07522015000200006&lng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522015000200006&lng=es).
15. Uberos J. Perinatal microbiota: review of its importance in newborn health. *Arch Argent Pediatr* 2020; 118(3). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32470263/>
16. Serrano Honeyman CA, Leon Rios MA, Harris Diez PR. Desarrollo de la Microbiota Gastrointestinal en Lactantes y Su Rol en Salud y Enfermedad. *ARS Medica* 2016; 41(1):35–43. Disponible en: <https://www.arsmedica.cl/index.php/MED/article/view/53>
17. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*. 2017; 474 (11): 1823–1836. Disponible en: <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>
18. Bauzá-Tamayo G, Bauzá-Tamayo D, Bauzá-López J, Vázquez-Gutiérrez G, de-la-Rosa-Santana J, García-Díaz Y. Incidencia y factores de riesgo de la diabetes gestacional. *Acta Médica del Centro* 2022; 16 (1): [aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/1614>
19. The American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Obstetric Practice Society for Maternal-Fetal Medicine. Definition of Term Pregnancy. *ACOG Clinical*. 2022; Num 579. Disponible en: <https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/committee-opinion/articles/2013/11/definition-of-term-pregnancy>
20. Chen T, Qin Y, Chen M, Zhang Y, Wang X, Dong T, et al. Gestational diabetes mellitus is associated with the neonatal gut microbiota and metabolome. *BMC Med* 2021; 19(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12916-021-01991-w>
21. Li X, Watanabe K, Kimura I. Gut Microbiota dysbiosis drives and implies novel therapeutic strategies for diabetes mellitus and related metabolic diseases. *Front Immunol*. 2017; 8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2017.01882>
22. Singh SB, Carroll-Portillo A, Lin HC. Desulfovibrio in the gut: The enemy within? *Microorganisms*. 2023;11(7):1772. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/11/7/1772>
23. Zafar, H., & Saier Jr, M. H. Gut Bacteroides species in health and disease. *Gut Microbes*, 2021; 13(1), 1848158 Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19490976.2020.1848158>