



REVISIÓN

Microbiota y diabetes mellitus tipo 2



Araceli Muñoz-Garach, Cristina Diaz-Perdigones y Francisco J. Tinahones*

Endocrinología y Nutrición, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, Málaga, España

Recibido el 20 de abril de 2016; aceptado el 17 de julio de 2016
Disponible en Internet el 12 de septiembre de 2016

PALABRAS CLAVE

Microbiota;
Obesidad;
Diabetes tipo 2;
Insulinorresistencia

Resumen En los últimos años son muy numerosos los trabajos que han relacionado la microbiota intestinal con el desarrollo de enfermedades de alta prevalencia como son la diabetes tipo 2 y la obesidad. La obesidad por sí misma se asocia con cambios en la composición de la microbiota intestinal con tendencia al sobrecrecimiento de microorganismos con una mayor eficiencia en la obtención de la energía de la dieta. Son varios los mecanismos que relacionan la microbiota con la aparición de insulinorresistencia y diabetes, entre ellos destacan los cambios en la permeabilidad intestinal, endotoxemia, interrelación con ácidos biliares, cambios en la proporción de tejido adiposo marrón y efectos asociados al uso de fármacos como la metformina.

Actualmente, a través de la dieta, el uso de pro y prebióticos y otras nuevas técnicas como el trasplante de microbiota intestinal, o incluso la terapia con antibióticos, se postulan como herramientas útiles para modular la aparición de obesidad e insulinorresistencia.

© 2016 Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de SEEN.

KEYWORDS

Microbiota;
Obesity;
Type 2 diabetes;
Insulin resistance

Gut microbiota and type 2 diabetes mellitus

Abstract In recent years, many studies have related gut microbiome to development of highly prevalent diseases such as type 2 diabetes and obesity. Obesity itself is associated to changes in the composition of gut microbiome, with a trend to an overgrowth of microorganisms more efficiently obtaining energy from diet. There are several mechanisms that relate microbiota to the onset of insulin resistance and diabetes, including changes in bowel permeability, endotoxemia, interaction with bile acids, changes in the proportion of brown adipose tissue, and effects associated to use of drugs like metformin.

Currently, use of pro and prebiotics and other new techniques such as gut microbiota transplant, or even antibiotic therapy, has been postulated to be useful tools to modulate the development of obesity and insulin resistance through the diet.

© 2016 Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of SEEN.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fjtinahones@hotmail.com (F.J. Tinahones).

Descripción de la microbiota intestinal

Los microorganismos que residen dentro y sobre el cuerpo humano constituyen nuestra microbiota y sus genes son conocidos como microbioma.

Alrededor de 10 a 100 trillones de microorganismos pueblan el intestino del adulto. Tienen un peso de 1,5 kilos y son cerca de 1.000 especies que superan por 100 el genoma humano. La gran mayoría reside en el colon.

Los componentes de la microbiota son mayoritariamente bacterias con una minoría de virus, hongos y células eucariotas. Los filos más abundantes, tanto en humanos como en ratones, son los *Firmicutes*, que representan el 60-80% e incluyen más de 200 géneros (los más importantes son *Ruminococcus*, *Clostridium* y *Lactobacillus*); los *Bacteroidetes*, que representan entre un 20-30% (donde destacan los *Bacteroides*, *Prevotella* y *Xylanibacter*), y las *Actinobacterias*, representan una minoría de en torno al 10% (con predominio del género *Bifidobacterium*). En menor medida, se localizan las *Proteobacterias* como *Escherichia* y *Enterobacteriaceae* (tabla 1). Existe una importante interacción entre ellos y con el huésped¹.

La microbiota del intestino está implicada en una variedad de funciones metabólicas como la fermentación y absorción de hidratos de carbono sin digerir, la absorción de electrolitos y minerales, la modulación de la motilidad intestinal y la síntesis de algunos micronutrientes². Por su papel en el desarrollo de estas funciones, los cambios microbianos en el intestino humano se han propuesto como una causa posible de obesidad³.

Además de sus funciones metabólicas, la microbiota participa en la interacción con el sistema inmunitario, proporcionando señales para promover la maduración de las células inmunitarias y el desarrollo normal de sus funciones, así como la destrucción de toxinas y carcinógenos, evitando la colonización por bacterias patógenas².

La composición de la microbiota intestinal depende de la edad, el sexo, la geografía, etnicidad, familia y dieta, y esta puede ser modulada por los prebióticos, probióticos y antibióticos⁴.

Los bebés adquieren su microbiota inicial ya desde el parto, en especial por vía vaginal maternal o procedente de la microflora fecal. De manera diferente, los niños nacidos

por cesárea poseen una microbiota característica de la piel. Estas diferencias según el tipo de parto parecen influir en la inmunidad desarrollada en el primer año de vida dando lugar a diferente microbiota intestinal⁵.

En los primeros días tras el nacimiento predominan las *Proteobacterias* y las *Actinobacterias*. La composición bacteriana comienza a converger hacia un perfil de microbiota adulta al final del primer año de vida, conforme el niño crece y empieza la ingesta de alimentos. La diversidad de la microbiota aumenta y se asemeja por completo a la microbiota adulta en torno a los 2 años y medio de edad. A partir de esta etapa, predominan *Firmicutes* y *Bacteroidetes*.

Durante este tiempo, el sistema inmunitario «aprende» a diferenciar entre las bacterias comensales y las patógenas. Una vez que la microbiota ha alcanzado la madurez, esta permanece en su mayor parte estable hasta la vejez. El consorcio ELDERMET ha estudiado la microbiota de los ancianos, encontrando una composición característica diferente de la de los adultos jóvenes, particularmente en las proporciones de los grupos *Bacteroides* y *Clostridium*^{6,7}.

En los últimos años está aumentando el interés en el conocimiento de la microbiota, con un incremento exponencial en el número de publicaciones en la materia. Se intenta esclarecer su relación con el desarrollo de enfermedades de alta prevalencia como son la diabetes y la obesidad⁸.

Es importante comprender que la microbiota no es una entidad congelada, sino que, con el paso de los años, los cambios en el ambiente y diferentes influencias pueden ir modulándola. Cambios en la ecología humana han ido afectando a la composición de la microbiota a lo largo de la evolución del ser humano, pero este cambio ha sido más radical en las últimas décadas.

Uno de los hallazgos más significativos es que en los países desarrollados se ha producido una pérdida de determinadas especies que colonizaban hace unas décadas nuestros intestinos, provocando una pérdida de la biodiversidad de nuestra microbiota.

Entre los factores que han influido en este cambio de la microbiota se encuentran el saneamiento del agua, el incremento de las cesáreas, el mayor uso de antibióticos en recién nacidos pretérmino, una reducción de la lactancia materna, el nuevo modelo de familias pequeñas, el incremento del aseo o la difusión de jabones antibacterianos⁹.

Cuando comparamos la microbiota de niños europeos con los africanos encontramos una composición radicalmente diferente. Los niños africanos presentan una mayor proporción de *Bacteroidetes* y de grampositivos en su intestino, mientras que parece que el estilo de vida occidental favorece el incremento de *Firmicutes* y de gramnegativos¹⁰.

Uno de los factores más importantes que pueden perturbar la composición de la microbiota es el uso de antibióticos. Aunque el particular taxón afectado varía entre individuos, algunos taxones no se recuperan incluso después de meses de tratamiento, y en general, hay una disminución a largo plazo en la biodiversidad de las bacterias tras su uso.

En relación con estas suposiciones, investigaciones en poblaciones aisladas han demostrado tener una más amplia variedad de microorganismos, superior que los sujetos industrializados¹¹.

Otros trabajos en humanos en etapas específicas como es el embarazo han identificado alteraciones en la

Tabla 1 Bacterias predominantes en la microbiota humana

Firmicutes (60-80%)

Ruminococcus

Clostridium

Lactobacillus

Bacteroidetes (20-30%)

Bacteroides

Prevotella

Xylanibacter

Actinobacterias (< 10%)

Bifidobacterium

Proteobacterias (< %1)

Escherichia

Enterobacteriaceae

microbiota materna, como mecanismo adaptativo al feto y a la diferente composición corporal^{12,13}.

Métodos para la determinación de la microbiota

Con objeto de conocer los mecanismos que podrían estar implicados en el desarrollo de la obesidad y otras enfermedades de alta prevalencia se han desarrollado proyectos a gran escala, como el Proyecto del Microbioma Humano y el MetaHIT^{14,15}.

La investigación en este campo se realiza principalmente con ARN ribosómico 16S (ARNr) y con la secuenciación de genomas completos (whole-genome shotgun); nos han proporcionado una visión general de las comunidades microbianas comensales y de su capacidad funcional¹⁴⁻¹⁶.

Estos trabajos han demostrado una gran variabilidad en la composición de la microbiota en individuos sanos, encontrándose cómo incluso los gemelos comparten menos del 50% de sus taxones bacterianos a nivel de especie. Sin embargo, este hecho no quiere decir que la genética no desempeñe un papel en el establecimiento y la conformación de la microbiota intestinal, ya que se ha demostrado que la composición de la comunidad bacteriana está influenciada por locus genómicos específicos del huésped^{17,18}.

Tradicionalmente, el estudio de la microbiota intestinal se ha abordado fundamentalmente a través del cultivo de los microorganismos y en su identificación mediante pruebas fenotípicas clásicas: morfológicas, fisiológicas y bioquímicas.

El cultivo de la microbiota fecal en medios selectivos y diferenciales es en apariencia el método más simple y directo; sin embargo, no posee una alta fiabilidad debido a la existencia de bacterias no cultivables. El 99% de las bacterias del contenido fecal son anaerobias estrictas y muchas de ellas extremadamente sensibles al oxígeno, lo que obliga a procurar estrictas condiciones reductoras durante el procesado y el cultivo.

Los métodos indirectos consisten básicamente en el estudio del metabolismo bacteriano. El principio se basa en la estimación de la microbiota intestinal mediante el análisis y la cuantificación de sus metabolitos o ciertas actividades enzimáticas. Se pueden estudiar metabolitos como los ácidos grasos volátiles o productos del metabolismo de los ácidos biliares mediante técnicas cromatográficas, o actividades enzimáticas de origen microbiano. Estos métodos de estudio presentan el inconveniente de que muchas actividades enzimáticas no son específicas de un microorganismo o de un grupo bacteriano concreto; a lo que hay que añadir la existencia, en ocasiones, de una gran variabilidad o plasticidad metabólica en las especies.

Los inconvenientes que los métodos tradicionales de estudio presentan han llevado al desarrollo de estrategias alternativas. La aplicación de herramientas de genética molecular independientes de cultivo ofrece un gran potencial en la identificación, la cuantificación y la tipificación de los microorganismos del tracto gastrointestinal. La reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction) con todas sus variantes es una de las metodologías más extendidas y utilizadas para estimar los microorganismos no cultivables. Muchas estrategias se basan, además, en

las diferencias de secuencia en el gen que codifica el ARNr 16S, que debido a la alternancia de regiones conservadas y variables, con claras implicaciones filogenéticas, es especialmente útil para el estudio de la diversidad microbiana.

El ARNr 16S es la macromolécula más ampliamente utilizada en estudios de filogenia y taxonomía bacteriana¹⁹.

Entre las técnicas más utilizadas están:

- Fluorescence in situ hybridization. Esta técnica cuantitativa consiste en la utilización de sondas para el ARNr marcadas con fluorescencia que se hibridan directamente con preparaciones bacterianas fijadas sobre un portaobjetos. La detección o visualización se realiza por microscopía de fluorescencia²⁰.
- Construcción de bibliotecas genómicas de secuencias del ADNr 16S obtenidas por amplificación directa del ADN bacteriano de las muestras. Si la amplificación no está sesgada, el número y la diversidad de los clones de la genoteca serán un reflejo de las especies presentes en la muestra original. La diversidad microbiana se determina tras la secuenciación y la comparación de las secuencias con las depositadas en las bases de datos²¹.
- Denaturing gradient gel electrophoresis y temperature gradient gel electrophoresis. Ambas metodologías se basan en la separación de fragmentos de amplificación con distinta secuencia mediante electroforesis en un gradiente desnaturante químico o de temperatura²².
- La gnotobiótica es un método de estudio in vivo de la microbiota intestinal que utiliza animales de experimentación libres de microorganismos. Tras el parto, realizado generalmente por cesárea, los animales se disponen directamente en cabinas estériles, donde además de la atmósfera, todos los materiales y nutrientes que se les proporciona son estériles. En otros casos, el estado de esterilidad se consigue con un primer biberón de antibióticos que imposibilita la implantación de bacterias en el tracto gastrointestinal. En estos animales se pueden introducir con posterioridad microorganismos de forma controlada para su estudio. Gran parte de las funciones que se le atribuyen a la microbiota intestinal se han determinado mediante la comparación de animales axénicos (estériles) y animales holoxénicos (animal convencional con microbiota normal)²³.

Papel de la microbiota en el desarrollo de obesidad

La obesidad es una enfermedad pandémica asociada con muchas alteraciones metabólicas e implica varios órganos y sistemas.

Durante el curso de la década pasada, varios estudios han unido causalmente la microbiota intestinal con el desarrollo de las enfermedades metabólicas como la diabetes y la obesidad. Emerge un nuevo paradigma que plantea como la microbiota puede contribuir en la regulación de la homeostasis energética.

Se postula como la interrelación de las circunstancias ambientales con la microbiota intestinal podría provocar un desbalance energético causando cambios metabólicos, neurocognitivos y del comportamiento que favorecerían el desarrollo de obesidad²⁴⁻²⁶.

La contribución independiente de la microbiota a una acumulación de grasa se ha demostrado en una serie de estudios in vivo en ratones. Los ratones libres de gérmenes, con falta de microbiota, tienen significativamente menos grasa corporal que los ratones normales, a pesar de comer más²⁷.

Probablemente, el experimento que más solidez le ha dado a la causalidad entre microbiota y obesidad, fue el realizado por Turnbaugh et al. en 2006 donde demostraron que el trasplante de la microbiota de ratones genéticamente obesos a ratones libres de gérmenes le provocaba un incremento de peso muy significativo comparado con los ratones libres de gérmenes que se le trasplantaba la microbiota de ratones delgados²⁸.

Estudios en ratones han encontrado una abundancia mayor de *Firmicutes* en ratones obesos y en aquellos alimentados con dietas occidentales, simultáneo a un descenso de la abundancia de *Bacteroidetes*^{3,29}. Dentro de los filos *Firmicutes*, la clase *Mollicutes* fue la más común en los ratones obesos²⁹.

El incremento de *Firmicutes* observado en animales y también en sujetos obesos se podría asociar con un aumento en la capacidad para digerir algunos polisacáridos indigeribles, dando lugar a monosacáridos y ácidos grasos de cadena corta capaces de ser absorbidos por el huesped, obteniendo así más energía de sustancias que en el sujeto delgado se eliminarían por las heces sin ser absorbidas^{3,30,31}.

Los *Bacteroidetes* poseen menos genes para las enzimas implicadas en el metabolismo de lípidos e hidratos de carbono que los *Firmicutes*³². Sin embargo, dentro de los filos *Bacteroidetes*, el *Bacteroides thetaiotaomicron* ha demostrado que mejora la absorción y el procesamiento de nutrientes del huésped³³.

Estudios en humanos encontraron resultados dispares. Algunos apoyaron el hallazgo de un índice alto de *Firmicutes/Bacteroidetes*^{8,34-36}, algunos no encontraron una correlación entre el índice de masa corporal y el índice de *Firmicutes/Bacteroidetes*^{37,38} y aún otros encontraron un índice opuesto^{39,40}.

Los pacientes obesos incluidos en un programa de dieta hipocalórica o aquellos sometidos a bypass gástrico en Y de Roux tenían proporciones reducidas de *Firmicutes* y/o aumento de los *Bacteroidetes*⁴¹⁻⁴³.

Otro hallazgo importante en humanos, fue observar que cambiar una dieta rica en grasas y baja en fibra por una baja en grasas y rica en fibra, provocó notables cambios en la microbiota intestinal en tan sólo 24 h. Además, numerosas evidencias indican que en humanos un incremento en la cantidad de grasas de la dieta disminuye la cantidad del género *Lactobacillus* y produce un incremento en las bacterias gramnegativas^{44,45}.

De manera específica, un nivel más alto de *Lactobacillus reuteri* y niveles más bajos de *Lactobacillus casei/paracasei* y *Lactobacillus plantarum* estaban asociados a la obesidad⁴⁶.

Zhang et al. sugieren que un mayor almacenamiento de energía en individuos obesos está relacionado con la transferencia de hidrógeno entre taxones ya que observaron un incremento simultáneo en *Prevotella* que produce hidrógeno y en *Archaea* metanogénica que utiliza hidrógeno^{41,46,47}. Las *Arqueas* metanogénicas son capaces de transformar el hidrógeno en metano y son capaces de obtener más energía de la misma ingesta calórica diaria^{48,49}.

Por otro lado, la microbiota intestinal puede disminuir la producción del factor adipocitario inducido por el ayuno (fat-induced adipocyte factor), llevada a cabo por las células intestinales e inhibiendo así la actividad de la lipoproteína lipasa. Estas enzimas favorecen la liberación de ácidos grasos no esterificados hacia los tejidos como el hígado y las células adiposas⁵⁰.

En el nivel de especies, varios estudios han investigado su asociación con la obesidad en humanos. En niños y mujeres embarazadas se demostró una asociación entre *Staphylococcus aureus* y el estado de sobrepeso^{40,51}. Un número menor de *Bacteroides* y un número mayor de *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* y *Escherichia coli* (*E. coli*) se han descrito en sujetos con sobrepeso comparado con mujeres embarazadas de peso normal³⁶. Niveles de *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*) (del filo *Firmicutes*) fueron significativamente mayores en niños obesos que en no obesos⁵². Se mostró que las proporciones del grupo de *Bacteroides-Prevotella* aumentan después de la pérdida de peso en adolescentes obesos⁵³.

Papel de la microbiota en el desarrollo de diabetes

Las técnicas de pirosecuenciación masiva han permitido avanzar de forma considerable en la caracterización de nuestra microbiota. Los resultados en pacientes con diabetes comparados con sujetos sin diabetes describen los siguientes hallazgos: un descenso de las bacterias productoras de butirato como *Roseburia intestinalis* y *F. prausnitzii*; un aumento de *Lactobacillus gasseri* (*L. gasseri*), *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) y ciertos *Clostridium* (tabla 2). Una mayor proporción de *Proteobacterias* y un incremento de la expresión de genes de la microbiota envueltos en el estrés oxidativo y la inflamación^{54,55}.

En estudios realizados por nuestro grupo comparando obesos metabólicamente sanos con obesos con resistencia a la insulina se siguen observando cambios importantes asociados a la resistencia a la insulina⁵⁶.

Son varios los mecanismos que se proponen para explicar cuál es la influencia de la microbiota sobre la resistencia a la insulina. A continuación, se detallan los que se postulan con mayor solidez en la literatura.

Tabla 2 Especies bacterianas relacionadas con la aparición de insulinoresistencia y diabetes mellitus tipo 2 (DM2)

	Aumentado en DM2	Descendido en DM2
<i>Filo bacteriano</i>		
<i>Firmicutes</i>	x	
<i>Bacteroidetes</i>		x
<i>Especie bacteriana</i>		
<i>Roseburia</i>		x
<i>Eubacterium halii</i>		x
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>		x
<i>Lactobacillus gasseri</i>	x	
<i>Streptococcus mutans</i>	x	
<i>Escherichia coli</i>	x	

Incremento en la endotoxemia

La diabetes tipo 2 se asocia a un estado proinflamatorio con un exceso moderado en la producción de citocinas como IL-6, IL-1 o factor de necrosis tumoral- α , que dificultan la interacción de la insulina con su receptor y contribuyen a la resistencia a la insulina y a la diabetes. El incremento en el peso parece ser uno de los factores iniciadores de esta inflamación de bajo grado.

Experimentos animales han demostrado que cambios en la microbiota son capaces de cambiar el grado de inflamación del tejido adiposo. Los lipopolisacáridos (LPS) son un componente de la pared celular de las bacterias gramnegativas. Se ha observado que se produce un incremento en los niveles de LPS circulantes en sujetos que tienen una ingesta de grasa aumentada^{57,58}. Los LPS se absorben por el enterocito y son transportados en plasma fundamentalmente unidos a los quilomicrones⁵⁹.

El papel causal de los LPS ha sido demostrado, ya que al infundir LPS en ratones alimentados con una dieta normal se inducía resistencia a la insulina a nivel hepático, intolerancia a la glucosa y un incremento en el peso del tejido adiposo. El LPS se une al receptor CD14/TLR4 presente en los macrófagos y se produce un incremento en la producción de moléculas proinflamatorias. Cuando las inyecciones de LPS se administraron a ratones con ausencia genética del receptor CD14/TLR4 no provocaron estas características metabólicas y no presentaron diabetes tipo 2 ni obesidad, mostrando el importante papel del mecanismo del receptor CD14/TLR4 para LPS. Además, los ratones knock out CD14/TLR4 eran incluso más sensibles a la insulina que los controles de tipo salvaje⁶⁰.

Esto sugiere que ante determinadas situaciones se produce un cambio en la proporción de bacterias gramnegativas en el intestino, o bien un cambio en la permeabilidad intestinal para que los LPS se incrementen en suero y este incremento en suero se relaciona de forma directa con el grado de resistencia a la insulina.

Modificaciones de la secreción de incretinas relacionadas con la resistencia a la insulina y la funcionalidad de la célula beta

Se ha mostrado que un aumento de *Bifidobacterium* spp. modula la inflamación en ratones obesos por un incremento en la producción de péptido similar al glucagón (GLP1), reduciendo también la permeabilidad intestinal. Existe evidencia de que el incremento de *Bifidobacterium* spp. que producen algunos prebióticos se acompaña de un incremento en la secreción de GLP1 y de péptido YY por parte del intestino; estas 2 moléculas tienen efectos favorables en el descenso de la resistencia a la insulina e incremento de la funcionalidad de la célula beta⁶¹.

Modificaciones en la producción de butirato

El butirato es un ácido graso de cadena corta (AGCC) que, junto con el propionato y el acetato, son producidos por las bacterias intestinales al digerir la fibra⁶².

Estos AGCC son absorbidos en el intestino, donde sobre todo el butirato proporciona energía a las células epiteliales del colon, mientras que el resto pasan al sistema venoso portal y el butirato contribuye de forma muy importante a disminuir la permeabilidad intestinal.

Los datos de los estudios con animales sugieren que el propionato afecta a la lipogénesis hepática y la gluconeogénesis, mientras que las funciones del acetato a nivel periférico se reducen a ser el sustrato para la síntesis de colesterol⁶³.

Curiosamente, en modelos animales, la producción de butirato ha demostrado afectar a los niveles de serotonina. Y afecta directamente al tono simpático, al tiempo de tránsito intestinal y a la actividad física⁶⁴.

Actualmente, se reconoce que la serotonina puede regular la permeabilidad intestinal además de ser un importante neurotransmisor en el intestino y el cerebro involucrado en la regulación del peso corporal y la ingesta de alimentos al controlar la saciedad. Una reducción en la producción cerebral de SERT, reguladores esenciales de la transmisión serotoninérgica, está asociada con obesidad⁶⁵.

Cambios en las características del tejido adiposo marrón

La obesidad se caracteriza por una reducción de la actividad termogénica del tejido adiposo marrón (BAT). El BAT promueve un fenotipo delgado y saludable y mejora la sensibilidad a la insulina. En respuesta al frío o ejercicio, células de grasa marrón también surgen en el tejido adiposo blanco (WAT), también conocidas como células de color beige, un proceso conocido como pardeamiento.

El desarrollo de la grasa de color beige en el tejido adiposo subcutáneo o visceral se logra en modelos animales tras tratamiento antibiótico de amplio espectro que erradica la microbiota o en ratones libres de gérmenes. Esto conduce a una mejor tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina, y la disminución de la grasa blanca y el tamaño de los adipocitos en ratones.

Estos efectos se revierten por la recolonización de los ratones tratados con antibióticos o libres de gérmenes con microbios⁶⁶.

Un reciente estudio revela que la microbiota intestinal dificulta la aparición de adipocitos marrones, conocidos como adipocitos beige, incluidos dentro del WAT habitual a través de un mecanismo que implica el control de los macrófagos y la infiltración de eosinófilos⁶⁷.

Influencia de los ácidos biliares secundarios

La mayoría de los ácidos biliares primarios conjugados se reabsorben por medio de la circulación enterohepática y solo un 5% escapa de este mecanismo alcanzando el intestino grueso y transformándose en ácidos biliares secundarios por acción principal de los *Firmicutes*.

En sujetos con sobrepeso y diabetes tipo 2 se observó menor número de ácidos biliares secundarios en comparación con los sujetos sanos. Esto parecía estar más relacionado con una alteración del metabolismo hidrocarbonado que con la obesidad.

Los ácidos biliares secundarios parecen tener un papel insulinosensibilizador. Actúan como moléculas mediadoras a través de receptores nucleares como el receptor FXR y el receptor de membrana TGR5 expresado en diversos tejidos como la vesícula, el íleon, colon y el BAT y el WAT⁶⁸.

En BAT y en músculo, aumenta la actividad mitocondrial y la fosforilación y conduce a una insulinosensibilización en modelos de ratones diabéticos y obesos. Sobre las células intestinales L parece mejorar el metabolismo glucémico estimulando la producción de péptidos como GLP1 y promoviendo la secreción de insulina.

Papel de colina y niacina como vitaminas

Las bacterias *Firmicutes*, *Actinobacteria* y *Proteobacteria* son capaces de degradar la colina. Sus productos finales se han asociado con el desarrollo de enfermedad cardiovascular y diabetes al ser productos que favorecen el desarrollo de estrés oxidativo. Para la niacina y sus productos de metabolización finales se han encontrado resultados similares con *F. prausnitzii*⁶⁸.

Influencia del tratamiento farmacológico

Aunque está claro que la salud pública se ha beneficiado sustancialmente del descubrimiento de los antibióticos, su amplia utilización está empezando a plantear problemas de salud. Además de la aparición de resistencia a los antibióticos, podría estar potencialmente asociado con la epidemia de obesidad⁶⁹.

El tratamiento con metformina, común en el paciente con diabetes tipo 2, también aparece como potencial modificador de la microbiota intestinal en algunos trabajos, en probable relación con sus efectos gastrointestinales⁷⁰.

Modificaciones de la microbiota intestinal

Hay lugar para la esperanza en cuanto a la utilidad de la microbiota y su adaptación para obtener beneficios para la salud. A través de la dieta, con prebióticos y probióticos, los antibióticos y técnicas más novedosas como el trasplante de microbiota intestinal parecen tener resultados alentadores.

Ya hemos comentado como la dieta modifica la composición de la microbiota y también la expresión del metagenoma independientemente del genoma del huésped^{23,24}. Trabajos recientes utilizando la dieta mediterránea también nos aportan información relevante sobre sus beneficios al modificar la microbiota intestinal en sujetos obesos para la prevención del desarrollo de diabetes tipo 2⁷¹.

Cuando sujetos obesos se sometieron a una dieta hipocalórica, baja en grasa o hidratos de carbono, se produjo un aumento en la abundancia de *Bacteroidetes* y una disminución en *Firmicutes*^{72,73}.

El consumo de probióticos y prebióticos han demostrado modificar la microbiota intestinal y mejorar el metabolismo hidrogenocarbonado⁷⁴. Bacterias fermentadoras de hidratos de carbono como las *bifidobacterias* y *Lactobacillus* se han administrado como parte del tratamiento prebiótico en trabajos con población de diferentes grupos de edad⁷².

En esta misma línea, cuando se dieron prebióticos que contenían oligofruktosa a ratones con una dieta alta en grasas, este restauraba los niveles de bifidobacterias y reducía la endotoxemia a la vez que mejoraba su tolerancia a la glucosa⁷⁵.

Otro trabajo de nuestro grupo demostró que el consumo de vino tinto puede modular significativamente el crecimiento de la flora intestinal en humanos, aumentando el número de *Enterococcus*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides uniformis*, *Eggerthella lenta* y *Blautia coccooides-Eubacterium rectale* y conduciendo a una menor cantidad de LPS. Esto indica posibles beneficios prebióticos en la dieta a través de los polifenoles del vino tinto^{76,77}.

Otra línea de intervención aparece con los probióticos, como suplementos nutricionales enriquecidos con cepas de bacterias vivas. Incluyendo especies de *bifidobacterias* y *lactobacilos*, que son capaces de alterar la flora intestinal de forma que resulte beneficiosa para el receptor. En ratones, se ha demostrado un efecto antidiabético tras la administración de probióticos que contienen ciertas cepas de *Lactobacillus* con una reducción concomitante de la endotoxemia⁷⁸⁻⁸⁰.

El tratamiento con antibióticos (ampicilina más neomicina) a ratones genéticamente obesos sometidos a una dieta rica en grasas modificó su microbiota y se redujo la resistencia a la insulina y el peso de los animales, además los animales sometidos a tratamiento antibiótico sorprendentemente redujeron el grado inflamación de su tejido adiposo así como el estrés oxidativo y la infiltración de macrófagos del mismo^{81,82}.

Otros trabajos, como el recientemente publicado por nuestro grupo, relaciona la mejora del metabolismo hidrogenocarbonado con la erradicación de *Helicobacter pylori*⁸³.

Los primeros trabajos en los que se utilizó la microbiota intestinal en trasplante fueron en pacientes que desarrollaban una colitis pseudomembranosa tras la infección por *Clostridium difficile* tratada con antibióticos y en los que el trasplante de materia fecal de donantes sanos parecía restaurar el equilibrio microbiano intestinal al sustituir las cepas bacterianas intestinales más patógenas, por otras más beneficiosas⁸⁴. Desde entonces su utilización se ha extendido a otras enfermedades intestinales y a partir de ahí se ha abierto un nuevo camino para su empleo en enfermedades como la obesidad, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares⁸⁵⁻⁸⁷.

Algunos trabajos recientemente publicados en este sentido utilizaron varones con resistencia a la insulina y síndrome metabólico, que recibieron un trasplante de microbiota fecal autógeno o alogénico de donantes delgados⁸⁶. Aquellos sujetos que recibieron el trasplante de donantes delgados mejoraron significativamente su sensibilidad periférica a la insulina. Además, se produjo un aumento de la diversidad microbiana intestinal y un aumento de las bacterias productoras de butirato.

Otro trabajo de la cohorte sueca mostró los cambios en la microbiota intestinal con mayores concentraciones de *L. gasseri* y *S. mutans* (ambos habitantes del intestino proximal), así como *E. coli* podían ayudar a predecir la posibilidad de desarrollar insulinoresistencia en mujeres posmenopáusicas⁸⁷.

Estos trabajos son a pequeña escala y no se han podido reproducir sus resultados en otros grupos pero han servido como estímulo para el desarrollo de mejores técnicas para la identificación de la microbiota intestinal y sus posibles propiedades.

Conclusiones

La identificación de una microbiota intestinal relacionada con la obesidad y diabetes tipo 2 ha servido como estímulo para el avance en la producción científica en los últimos años de forma exponencial. Son múltiples los factores implicados en las modificaciones de la microbiota intestinal y su relación con la diabetes tipo 2. Las posibilidades actuales para modificar esta microbiota en nuestro propio beneficio son numerosas y ofrecen resultados esperanzadores.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Rodríguez-Valera F, Martín-Cuadrado AB, Rodríguez-Brito B, Pasić L, Thingstad TF, Rohwer F, et al. Explaining microbial population genomics through phage predation. *Nature reviews. Microbiology*. 2009;7:828–36.
- Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2006;312:1355–9.
- Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:11070–5.
- Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*. 2006;124:837–48.
- Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:11971–5.
- O’Sullivan O, Coakley M, Lakshminarayanan B, Claesson MJ, Stanton C, O’Toole PW, et al., ELDERMET consortium. Correlation of rRNA gene amplicon pyrosequencing and bacterial culture for microbial compositional analysis of faecal samples from elderly Irish subjects. *J Appl Microbiol*. 2011;111:467–73.
- Jeffery IB, Lynch DB, O’Toole PW. Composition and temporal stability of the gut microbiota in older persons. *ISME J*. 2016;10:170–82.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444:1022–3.
- Emerson D, Wilson W. Giving microbial diversity a home. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7:758.
- De Fillipo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:114691–6.
- Clemente JC, Pehrsson EC, Blaser MJ, Sandhu K, Gao Z, Wang B, et al. The microbiome of uncontacted Amerindians. *Sci Adv*. 2015.
- Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, Spor A, Laitinen K, Bäckhed HK, et al. Host remodeling of the gut microbiota and metabolic changes during pregnancy. *Cell*. 2012;150:470–80.
- Banks WA. A vagina monologue: Mom’s stress, bugs, and baby’s brain. *Endocrinology*. 2015;156:3066–8.
- Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al., MetaHIT Consortium. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464:59–65.
- Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research. *Nature*. 2012;486:215–21.
- Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al., MetaHIT consortium. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500:541–6.
- Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*. 2009;457:480–4.
- Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut microbiota from twins discordant for Obesity modulate metabolism in mice. *Science*. 2013;341:1241214.
- Amaral-Zettler L, Peplies J, Ramette A, Fuchs B, Ludwig W, Glöckner FO. Proceedings of the international workshop on Ribosomal RNA technology. *Syst Appl Microbiol*. 2008;31:258–68.
- Harmsen HJ, Gibson GR, Elfferich P, Raangs GC, Wildeboer-Veloo AC, Argaiz A, et al. Comparison of viable cell counts and fluorescence in situ hybridization using specific rRNA-based probes for the quantification of human fecal bacteria. *FEMS Microbiol Lett*. 2000;183:125–9.
- Hold GL, Pryde SE, Russell VJ, Furrer E, Flint HJ. Assessment of microbial diversity in human colonic samples by 16S rDNA sequence analysis. *FEMS Microbiol Ecol*. 2002;39:33–9.
- Zoetendal EG, von Wright A, Vilpponen-Salmela T, Ben-Amor K, Akkermans AD, de Vos WM. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. *Appl Environ Microbiol*. 2002;68:3401–7.
- Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: What we know and need to know from gnotobiology. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998;62:1157–70.
- Parashar A, Udayabanu M. Gut microbiota regulates key modulators of social behavior. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2016;26:78–91.
- Fernandez-Real JM, Serino M, Blasco G, Puig J, Daunis-i-Estadella J, Ricart W, et al. Gut microbiota interacts with brain microstructure and function. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100:4505–13.
- Jiang H, Ling Z, Zhang Y, Mao H, Ma Z, Yin Y, et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. 2015;48:186–94.
- Backhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci*. 2004;101:15718–23.
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444:1027–31.
- Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut, microbiome. *Cell Host Microbe*. 2008;3:213–23.
- Schwartz A, Taras D, Schafer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity*. 2010;18:190–5.
- Zhang C, Zhang M, Wang S, Han R, Cao Y, Hua W, et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *ISME J*. 2010;4:232–41.
- Kallus SJ, Brandt LJ. The intestinal microbiota and obesity. *J Clin Gastroenterol*. 2012;46:16–24.

33. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*. 2001;291:881–4.
34. Armougom F, Henry M, Vialettes B, Raccach D, Raoult D. Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and methanogens in anorexic patients. *PLoS ONE*. 2009;4.
35. Million M, Maraninchi M, Henry M, Armougom F, Richet H, Carrieri P, et al. Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. *Int J Obes*. 2012;36:817–25.
36. Santacruz A, Collado MC, Garcia-Valdes L, Segura MT, Martín-Lagos JA, Anjos T, et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *Br J Nutr*. 2010;104:83–92.
37. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473:174–80.
38. Mai V, McCrary QM, Sinha R, Gleib M. Associations between dietary habits and body mass index with gut microbiota composition and fecal water genotoxicity: An observational study in African American and Caucasian American volunteers. *Nutr J*. 2009;8:49.
39. Schwartz A, Taras D, Schafer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity*. 2010;18:190–5.
40. Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr*. 2008;88:894–9.
41. Zhang H, diBaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, Yu Y, et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:2365–70.
42. Furet JP, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: Links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*. 2010;59:3049–57.
43. Graessler J, Qin Y, Zhong H, Zhang J, Licinio J, Wong ML, et al. Metagenomic sequencing of the human gut microbiome before and after bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes: Correlation with inflammatory and metabolic parameters. *Pharmacogenomics J*. 2013;13:514–22.
44. Million M, Maraninchi M, Henry M, Armougom F, Richet H, Carrieri P, et al. Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. *Int J Obes*. 2012;36:817–25.
45. Alcock J, Lin HC. Fatty acids from diet and microbiota regulate energy metabolism. *F1000Res*. 2015; 4(F1000 Faculty Rev):738. doi: 10.12688/f1000research.6078.1. eCollection 2015.
46. Li S, Zhang C, Gu Y, Chen L, Ou S, Wang Y, et al. Lean rats gained more body weight than obese ones from a high-fibre diet. *Br J Nutr*. 2015;114:1188–94.
47. Zhang L, Nichols RG, Correll J, Murray IA, Tanaka N, Smith PB, et al. Persistent organic pollutants modify gut microbiota-host metabolic homeostasis in mice through aryl hydrocarbon receptor activation. *Environ Health Perspect*. 2015;123:679–88.
48. Gaci N, Borrel G, Tottey W, O'Toole PW, Brugere JF. Archaea and the human gut: New beginning of an old story. *World J Gastroenterol*. 2014;20:16062–78.
49. Armougom F, Henry M, Vialettes B, Raccach D, Raoult D. Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and *Methanogens* in anorexic patients. *PLoS One*. 2009;4:e7125.
50. Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:979–84.
51. Kalliomaki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:534–8.
52. Balamurugan R, George G, Kabeerdoss J, Hepsiba J, Chandragunasekaran AM, Ramakrishna BS. Quantitative differences in intestinal *Faecalibacterium prausnitzii* in obese Indian children. *Br J Nutr*. 2010;103:335–8.
53. Nadal I, Santacruz A, Marcos A, Warnberg J, Garagorri JM, Moreno LA, et al. Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *Int J Obes*. 2009;33:758–67.
54. Palau-Rodriguez M, Tulipani S, Queipo-Ortuño MI, Urpi-Sarda M, Tinahones FJ, Andres-Lacueva C. Metabolomic insight into the intricate gut microbial host interaction in the development of obesity and type 2 diabetes. *Front Microbiol*. 2015;6:1151.
55. Tilg H, Moschen AR. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut*. 2014;63:1513–21.
56. Serino M, Fernández-Real JM, García-Fuentes E, Queipo-Ortuño M, Moreno-Navarrete JM, Sánchez A, et al. The gut microbiota profile is associated with insulin action in humans. *Acta Diabetol*. 2013;50:753–61.
57. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, Fisher FM, Da Silva NF, Khanolkar M, et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;292:E740–7.
58. Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: Evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr*. 2007;86:1286–92.
59. Cani PD, Delzenne NM. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Current Pharmaceutical Design*. 2009;15:1546–58.
60. Pussinen PJ, Havulinna AS, Lehto M, Sundvall J, Salomaa V. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34:392–7.
61. Velasquez-Manoff M. Gut microbiome: The peacekeepers. *Nature*. 2015;518:S3–11.
62. Cummings JH. Short chain fatty acids in the human colon. *Gut*. 1981;22:763–79.
63. Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ, Lefevre M, et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes*. 2009;58:1509–17.
64. Zhu H, Huang Q, Xu H, Niu L, Zhou J-N. Antidepressant-like effects of sodium butyrate in combination with estrogen in rat forced swimming test: Involvement of 5-HT(1A) receptors. *Behav Brain Res*. 2009;196:200–6.
65. Simansky KJ. Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. *Behav Brain Res*. 1996;73:37–42.
66. Suárez-Zamorano N, Fabbiano S, Chevalier C, Stojanović O, Colin DJ, Stevanović A, et al. Microbiota depletion promotes browning of white adipose tissue and reduces obesity. *Nat Med*. 2015;21:1497–501.
67. Burcelin R, Pomié C. Gut microbiota cool-down burning fat! The immune hypothesis. *Trends Endocrinol Metab*. 2016;27:67–8.
68. Palau-Rodriguez M, Tulipani S, Isabel Queipo-Ortuño M, Urpi-Sarda M, Tinahones FJ, Andres-Lacueva C. Metabolomic insights into the intricate gut microbial-host interaction in the development of obesity and type 2 diabetes. *Front Microbiol*. 2015;6:1151.
69. Blaser M. Antibiotic overuse: Stop the killing of beneficial bacteria. *Nature*. 2011;476:393–4.
70. Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S, et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature*. 2015;528:262–6.
71. Haro C, Montes-Borrego M, Rangel-Zúñiga OA, Alcalá-Díaz JF, Gómez-Delgado F, Pérez-Martínez P, et al. Two healthy diets modulate gut microbial community improving insulin sensitivity in human obese population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101:233–42.

72. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334:105–8.
73. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, ANR MicroObes consortium. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013;500:585–8.
74. Rastall RA, Gibson GR, Gill HS, Guarner F, Klaenhammer TR, Pot B, et al. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications. *FEMS Microbiol Ecol*. 2005;52:145–52.
75. Meyer D, Stasse-Wolthuis M. The bifidogenic effect of inulin and oligofructose and its consequences for gut health. *Eur J Clin Nutr*. 2009;63:1277–89.
76. Queipo-Ortuño MI, Boto-Ordóñez M, Murri M, Gomez-Zumaquero JM, Clemente-Postigo M, Estruch R, et al. Influence of red wine polyphenols and ethanol on the gut microbiota ecology and biochemical biomarkers. *Am J Clin Nutr*. 2012;95:1323–34.
77. Clemente-Postigo M, Queipo-Ortuño MI, Boto-Ordóñez M, Coin-Araguez L, Roca-Rodríguez MM, Delgado-Lista J, et al. Effect of acute and chronic red wine consumption on lipopolysaccharide concentrations. *Am J Clin Nutr*. 2013;10:1–9.
78. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*. 2007;50:2374–83.
79. Yadav H, Jain S, Sinha PR. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. *Nutrition*. 2007;23:62–8.
80. Boto-Ordóñez M, Urpi-Sarda M, Queipo-Ortuño MI, Tulipani S, Tinahones FJ, Andres-Lacueva C. High levels of bifidobacteria are associated with increased levels of anthocyanin microbial metabolites: A randomized clinical trial. *Food Funct*. 2014;5:1932–8.
81. Hernández E, Bargiela R, Diez MS, Friedrichs A, Pérez-Cobas AE, Gosalbes MJ, et al. Functional consequences of microbial shifts in the human gastrointestinal tract linked to antibiotic treatment and obesity. *Gut Microbes*. 2013;4:306–15.
82. Membrez M, Blancher F, Jaquet M, Bibiloni R, Cani PD, Burcelin RG, et al. Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J*. 2008;22:2416–26.
83. Roca-Rodríguez MM, Coin-Araguez L, Cornejo-Pareja I, Alcaide J, Clu-Fernández C, Muñoz-Garach A, et al. Carbohydrate metabolism improvement after *Helicobacter pylori* eradication. *Diabetes Metab*. 2016;42:130–4.
84. Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2013;368:407–15.
85. Smits LP, Bouter KEC, de Vos WM, Borody TJ, Nieuwdorp M. Therapeutic potential of fecal microbiota transplantation. *Gastroenterology*. 2013;145:946–53.
86. Kootte RS, Vrieze A, Holleman F, Dallinga-Thie GM, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2012;14:112–20.
87. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JF, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*. 2012;143:913–6.