

DISBIOSIS INTESTINAL EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



Autora: Nieves Celia Navarro Larráz
Facultad de ciencias de salud y del deporte
Fecha de presentación: 22 Junio 2022

Director: David Pacheu Grau
Área: Bioquímica y Biología Molecular y Celular

Índice

Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
1.1 Metabolismo de los hidratos de carbono	2
1.2 Defectos del metabolismo de los hidratos de carbono.....	2-3
1.3 Diabetes mellitus.....	3
1.4 Tratamiento de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2.....	3-4
1.5 Microbiota inestinal.....	4
1.6 Prebióticos y probióticos.....	4-5
2. Objetivos.....	6
2.1 Objetivos generales.....	6
2.2 Objetivos específicos.....	6
3. Metodología.....	6
3.1 Tipo de estudio.....	6
3.2 Criterio de selección de estudio.....	6
3.2.1 Criterios de inclusión.....	6
3.2.2 Criterios de exclusión.....	6
3.3 Estrategias de búsqueda.....	6
3.4 Sistema de lectura crítico utilizado.....	7
4. Resultados.....	7-16
4.1 Funciones principales de la microbiota y factores desencadenantes para alterar el estado de la flora intestinal.....	7
4.2 Endotoxemia metabólica derivada de un desequilibrio de la microbiota intestinal.....	7-8
4.3 Sistema endocannabinoide.....	8
4.4 Diferencias entre el estado de la microbiota en sujetos sanos y enfermos.....	8-10
4.5 Relacionando la microbiota y los ácidos grasos de cadena corta.....	10-11
4.6 Aminoácidos y riesgo de padecer diabetes mellitus tipo 2.....	11-12
4.7 Influencia del tratamiento farmacológico sobre la microbiota intestinal.....	12-13
4.8 El uso de probióticos como punto de inflexión para revertir el desequilibrio de una microflora alterada.....	13-14
4.9 Trasplante fecal y microbiota intestinal.....	14-15
4.10 Cómo influye el estado de la microbiota sobre las vías metabólicas.....	15-16
5. Discusión.....	16
6. Conclusiones.....	17
7. Listado de abreviaturas.....	18
8. Bibliografía.....	19-24

Resumen

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad que constituye un verdadero problema de salud. Se trata de una afección que en la actualidad afecta a 425 millones de personas en todo el mundo. No hay duda de que existe una relación directa entre la alimentación y la enfermedad. El objetivo de este TFG es ahondar en las conexiones entre la acción de los nutrientes de la dieta, su acción sobre la microbiota intestinal y finalmente sobre la manifestación de la alteración metabólica. Para ello se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica.

Una de las características comunes que tienen estos pacientes es un desequilibrio en la microbiota intestinal. Numerosos estudios confirman este hecho, donde las bacterias con carácter oportunista se encuentran en una proporción mayor que las bacterias beneficiosas desencadenando una cascada de moléculas pro-inflamatorias que atraviesan las paredes intestinales y viajan por el torrente sanguíneo desencadenando un estado inflamatorio crónico que afecta a numerosos procesos internos del organismo. Existen alternativas para paliar los efectos de la enfermedad, como puede ser la ingesta de probióticos y prebióticos, medicamentos o incluso seguir una dieta apropiada que ayudan a modular el estado de la microbiota intestinal, reduciendo así la resistencia a la insulina, la glucosa en ayunas y el estado inflamatorio.

Abstract

Type 2 diabetes mellitus is a disease that constitutes a real health issue. This condition currently affects 425 million people worldwide. Without a doubt, there is a direct link between diet and disease. The aim of this TFG is to deepen into the connections between the effect of dietary nutrients, their impact on the intestinal microbiota and finally on the manifestation of the metabolic alteration. To this end, a bibliographic review has been carried out.

One of the characteristics common to these patients is an imbalance in the intestinal microbiota. Numerous studies confirm this fact, where opportunistic bacteria are found in a higher proportion than beneficial bacteria, triggering a cascade of pro-inflammatory molecules that cross the intestinal walls and travel through the bloodstream, triggering a chronic inflammatory state that affects numerous internal processes in the body. There are alternatives to mitigate the effects of the disease, such as the supplementation with probiotics and prebiotics, medications or even following an appropriate diet that help modulate the state of the intestinal microbiota, thereby reducing insulin resistance, glucose levels during a fasting period and the inflammatory condition.

1. Introducción

1.1 Metabolismo de los hidratos de carbono

El metabolismo de los hidratos de carbono es un proceso bioquímico de formación, ruptura y conversión de los carbohidratos en los organismos vivos. Los carbohidratos son las principales moléculas destinadas al aporte de energía gracias a su rápida metabolización. La glucosa es el carbohidrato más común, la oxidación de ésta genera 4 kcal de energía.

La oxidación de la glucosa se lleva a cabo mediante un conjunto de reacciones enzimáticas, ligadas las unas con las otras y vigiladas bajo un estricto control metabólico, con el fin de obtener la energía contenida en la glucosa. Existen diferentes procesos bioquímicos para la obtención de la glucosa. La glucólisis es la ruptura de la molécula de glucosa, la glucógenogénesis síntesis de glucógeno a partir de glucosa cuando las concentraciones de ésta última están aumentadas y glucogenólisis es la conversión del glucógeno en glucosa cuando el aporte de glucosa es insuficiente.

La glucólisis es la principal vía metabólica encargada de oxidar la glucosa con la finalidad de obtener energía. Este proceso se lleva a cabo mediante 10 reacciones enzimáticas que convierten la glucosa en dos moléculas de piruvato en el citosol de la célula. Este producto es transportado a la mitocondria dónde se convierte en acetil-CoA mediante el ciclo de Krebs. Este ciclo es un proceso enzimático en el que se genera energía en forma de ATP. El proceso culmina con la cadena transportadora de electrones donde los electrones pasan a través de complejos prostéticos en la matriz mitocondrial que generan un flujo de electrones que va desde la matriz hasta el espacio intermembrana que ocasiona un gradiente de pH y un potencial de membrana que permite con el retorno de protones hacia la matriz mitocondrial la generación de ATP. La gluconeogénesis o glucogenólisis es la formación de glucosa a partir de precursores. El proceso se puede llevar a cabo desde glicerol aminoácidos o ácido láctico. El glicerol es un producto obtenido de la lipólisis y se convierte en glucosa mediante una serie de reacciones enzimáticas y así puede ser liberada a sangre. (1)

1.2 Defectos del metabolismo de los hidratos de carbono

En el momento que el metabolismo de los carbohidratos se ve alterado aparecen complicaciones severas que pueden llevar incluso a la muerte si no se trata rápida y eficazmente. El trastorno de los hidratos de carbono más común es la diabetes. Según la American Diabetes Association (2) la diabetes se puede clasificar en:

- I. Diabetes mellitus tipo 1: se debe a una destrucción total de las células β pancreáticas y suele conducir a una deficiencia absoluta de insulina. La clasificación actual de la diabetes de tipo 1 se subdivide en dos:
- Diabetes mellitus tipo 1 A o autoinmune: Se origina por una destrucción autoinmunitaria de las células β -pancreáticas y presenta marcadores de autoinmunidad pancreática. Se asocia a haplotipos HLA de predisposición para la diabetes. La destrucción de células productoras de insulina es variable dependiendo de los individuos. Los pacientes pueden presentar una cetoacidosis o cetosis como primera manifestación al comienzo de la enfermedad. Sin embargo, otros pacientes, especialmente adultos, pueden mantener una función β -pancreática residual durante bastantes años.
 - Diabetes mellitus tipo 1B o idiopática: Su etiología se desconoce. No existe evidencia de autoinmunidad y no se asocia a haplotipos de predisposición a la diabetes. La mayoría de pacientes son de origen afroamericano, asiático, nativo americano o hispanoamericano, y pueden presentar insulinopenia fluctuante.
- II. Diabetes gestacional: se trata de un tipo de diabetes que aparece durante el embarazo. Se desconocen las causas exactas que provocan este tipo de diabetes pero una de las más aceptadas es por causas hormonales. Se cree que las propias hormonas que regulan diferentes procesos del embarazo podrían provocar un aumento de la resistencia periférica de la insulina, afectando su función y provocando que aumenten los niveles de azúcar en sangre. En el momento que una mujer embarazada desarrolla la enfermedad, se debe poner en tratamiento ya que la hiperglucemia sufrida por la madre se puede pasar al feto y éste desarrollar diabetes mellitus de tipo 2 y obesidad en el futuro (3).
- III. Diabetes MODY: se trata de una forma monogénica de la enfermedad, solo una mutación en heterocigosis en un único gen es suficiente para que la enfermedad se exprese. Su patrón de herencia es autosómico dominante, es decir que la diabetes estará presente en todas las generaciones y en el 50% de los hijos. Debido a esta mutación se produce una alteración de los mecanismos de secreción de insulina β pancreática (4).
- IV. Diabetes mellitus tipo 2: es el tipo de diabetes en el que se centra este estudio y a continuación se detalla con mayor profundidad.

1.3 Diabetes mellitus tipo 2.

La diabetes mellitus tipo 2 es una afección del páncreas caracterizada por una hiperglucemia crónica derivada de una deficiencia en la secreción o acción de la insulina que desencadena complicaciones agudas (cetoacidosis y coma hiperosmolar), crónicas microvasculares (retinopatías y neuropatías) y macrovasculares (cardiopatía coronaria, enfermedades cerebrovasculares y vasculares periféricas). Se trata una de las enfermedades crónicas con mayor impacto en la calidad de vida de la población mundial, constituyendo un verdadero problema de salud (5).

Según la OMS, el número de personas con diabetes casi se ha cuadruplicado desde los años 80 hasta la actualidad llegando a los 425 millones de personas entre 20 y 79 años (8.8%). El 5% de las personas que sufren diabetes, padecen la de tipo 2 debido al exceso de peso y la inactividad física(6). Según la Federación Internacional de la Diabetes (FID) sugiere que si no se implantan medidas de prevención, la prevalencia mundial habrá aumentado hasta el 9.9 % en 2045 con 629 millones de afectados en todo el mundo (7).

1.4 Tratamiento de pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

El coste directo anual de la diabetes mellitus (DM) en nuestro país es muy alta, tanto en pacientes como en el sistema sanitario. Los costes directos en España ascienden a 5809 millones de € anuales, donde se incluyen tanto el ámbito sanitario como el tratamiento farmacológico (8). Estos datos revelan la importancia de establecer medidas para prevenir y controlar la diabetes mellitus tipo 2.

El manejo primordial del paciente con DM es:

- Evitar descompensaciones agudas.
- Aliviar síntomas cardinales.
- Minimizar el riesgo de desarrollo y progresión de complicaciones.
- Evitar la hipoglucemia.
- Mejorar el perfil lipídico.
- Disminuir la mortalidad.

El tratamiento principal que debería pautarse para las personas que padecen la enfermedad debería ser una combinación de ejercicio y dieta, aunado al tratamiento farmacológico para el adecuado control de las cifras de glucosa evitando así, complicaciones severas (9).

La dieta idónea que debería seguir un paciente con diabetes tipo 2, sería aquella que menos comprometiera su salud pancreática. Las hiperglucemias que sufren estos pacientes derivada de una actuación poco eficaz de la hormona insulina hacen que la dieta tenga un pilar fundamental en el manejo

de la enfermedad. En general, se pauta una dieta variada y equilibrada, donde primen los alimentos cuya procedencia sea lo más natural y poco procesada posible. Los alimentos más idóneos serían las verduras, hortalizas, frutos secos y semillas por su alto contenido en fibra que ayuda al control glucémico, también se debería incluir el aceite de oliva virgen extra y los pescados ya que tienen una gran variedad de ácidos grasos saludables, además de la carne de pasto que aporta una gran cantidad de proteínas de alto valor biológico. En general lo más importante sería abandonar los malos hábitos como el alcohol o el tabaco además de evitar las comidas poco naturales y muy procesadas que están llenas de grasas trans y azúcares simples.

1.5 La microbiota intestinal

La microbiota intestinal (MI) es un complejo de más de 1000 géneros de bacterias además de un gran número de levaduras, virus y fagos. Los principales filos bacterianos que entran en la composición de la MI son los *Firmicutes* y los *Bacteroidetes* que representan alrededor del 90% de las bacterias totales, y las *Actinobacteria*; otros filos sub-dominantes tales como las *Proteobacteria*, *Fusobacteria* y *Verrucomicrobia* también están presentes. La MI influye en la expresión de genes en la mucosa intestinal, como los implicados en la defensa del organismo, la regulación de la función intestinal de barrera, la vascularización de la mucosa, los procesos de digestión/absorción de nutrientes y la glicosilación de las proteínas y lípidos (10).

Los pacientes con diabetes tipo 2 padecen una microbiota intestinal alterada, donde la cantidad de bacterias oportunistas es mayor que la de bacterias beneficiosas. La alteración de la flora intestinal es debida en gran parte a factores externos como la dieta o los hábitos de los hospedadores. La dieta alta en grasa y azúcares refinados repercute negativamente al ecosistema bacteriano de modo que afecta a la permeabilidad intestinal, dejando vía libre a las bacterias de carácter pro inflamatorio circular por el torrente sanguíneo y desencadenar un estado inflamatorio crónico.

1.6 Prebióticos y Probióticos de la diabetes mellitus tipo 2.

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad que en la actualidad no tiene cura, pero existen alternativas para paliar sus efectos. La dieta, los fármacos o el uso de probióticos y prebióticos pueden ayudar. Los prebióticos son un ingrediente fermentado que da lugar a cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal, confiriendo así beneficios a la salud del huésped. Entre los prebióticos comunes se encuentran:

- Oligofructosa
- Inulina
- Galacto oligosacáridos

- Lactulosa
- Oligosacáridos de la leche materna

Los alimentos que contienen prebióticos suelen ser hortalizas, frutas verduras y lácteos, lo cuál sería idóneo incluir en la dieta de los pacientes con diabetes tipo 2 para fomentar la actividad de la flora intestinal, confiriendo beneficios a la salud del huésped (11)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el término probiótico como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un efecto beneficioso para la salud del sujeto que lo recibe” (12).

Los principales grupos que suelen usarse como probióticos son *lactobacillus* y *bifidobacterias*. Estos grupos de bacterias han sido reconocidos por organismos como GRAS (Generally Regarded As Safe) y QPS (Qualified Presumption of Safety), por la Food and Drug Administration de EEUU y por la European Food Safety Authority, debido a que son los únicos grupos de bacterias que son inocuos bajo cualquier circunstancia. Las características principales que debe cumplir un probiótico, está la adaptación a las condiciones de la cavidad diana y una buena adherencia al epitelio que la recubre, la generación de sustancias antimicrobianas y la ausencia de resistencias transmisibles a antibióticos.

Para poder considerar, y utilizar, a un microorganismo como probiótico es necesario que presente una serie de características de seguridad, funcionales y tecnológicas: (13)

1. Requerimientos de seguridad que una cepa debe cumplir durante el proceso de selección de un probiótico:

- Las cepas para uso humano deben de ser preferentemente de origen humano.
- Aislados de humanos sanos.
- No patógenos ni tóxicos
- No portar genes transmisibles de resistencia a antibióticos.

2. Características funcionales que es conveniente que presente el probiótico:

- Sobrevivir a las condiciones del ambiente gastrointestinal
- Adherencia a las superficies epiteliales y persistencia en el tracto gastrointestinal.
- Inmunoestimulación, pero sin efecto proinflamatorio.
- Actividad antagonista contra patógenos.
- Propiedades antimutagénicas y anticarcinogénicas.

3. Aspectos tecnológicos a considerar del probiótico

- Contener un número adecuado de cepas viables que conduzcan al efecto beneficioso demostrado.
- Resistencia a fagos.
- Viabilidad durante el procesado.
- Estabilidad en el producto y durante el almacenamiento.
- Evidencia científica: estudios controlados de eficacia en seres humanos.
- Almacenamiento: sustancias de vehículo o relleno que no afecten a la viabilidad de la cepa.
- Nomenclatura específica: una cepa probiótica se identifica por su género, especie, y una designación alfa numérica. La comunidad científica ha acordado una nomenclatura para los microorganismos, por ejemplo, *Lactobacillus casei* DN-114 001 o *Lactobacillus Rhamnosus* GG. La comercialización y los nombres comerciales no están regulados, y las compañías pueden ponerle el nombre que quieran a sus productos probióticos, por ejemplo, LGG.
- Etiqueta adjunta: donde especifique estas características de forma clara y veraz

Debido a la alta repercusión que tiene en el panorama actual y el gran aumento de casos año tras año, se debería replantear la manera de abordar este tema. Concienciar a la población y dar a conocer otras alternativas como es el cuidado de la salud intestinal sería una alternativa muy eficaz.

2. Objetivos

2.1 Objetivos generales

El objetivo general del presente estudio es poder comprobar fehacientemente la disbiosis intestinal asociada a la diabetes mellitus tipo 2 y ahondar en las estrategias más eficaces para poder mejorar la salud de los pacientes.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar los factores desencadenantes de la disbiosis intestinal y por ende el desarrollo de diabetes.
- Identificar las diferencias entre el estado de la microbiota intestinal de individuos sanos y enfermos.

- Identificar cuáles son los efectos de la disbiosis intestinal a nivel metabólico.
- Conocer qué tipos de método existen para revertir o mejorar una microflora alterada.

3 Metodología

3.1 Tipo de estudio

Para la elaboración del presente trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica a través de la cual se han analizado los estudios y meta análisis buscados en los diferentes buscadores bibliográficos.

4 Criterios de selección de estudio: Como criterios de selección se han tenido en cuenta los siguientes:

4.1 Criterios de inclusión: se incluyen artículos relacionados con la diabetes mellitus tipo 2 y microbiota intestinal, tanto en animales como en humanos, y en cuanto a estos últimos el rango de edad fuera superior a 18 años.

4.2 Criterios de exclusión: se excluyeron artículos relacionados con diabetes mellitus tipo 1 y diabetes gestacional.

5 Estrategia de búsqueda

La búsqueda se realizó en inglés y en español. Las palabras clave para buscar los artículos fueron:

Diabetes Mellitus tipo 2, Microbiota intestinal, Disbiosis intestinal, Gut microbiota, Diabetes type 2, Insulin Resistance, Probiotics and prebiotics.

En cuanto a los buscadores bibliográficos utilizados:

- Pubmed
- Elsevier
- Google académico
- Revista Nature
- Science Direct
- American diabetes association

6 Sistema de lectura crítico utilizado

De todos los artículos que se encontraron utilizando los términos de búsqueda en los buscadores mencionados, se escogieron aquellos que cumplían los criterios de inclusión, siendo particularmente aquellos que respondían a los criterios de relación de la disbiosis intestinal en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Se escogieron un total de 46 artículos.

7 Resultados:

A continuación, se explican los diferentes resultados que se han obtenido tras una búsqueda específica, en los cuales se describe los factores que pueden afectar a la composición bacteriana intestinal y cómo esta se relaciona directamente con el desarrollo de diabetes tipo 2.

7.1 Funciones principales de la microbiota y factores desencadenantes para alterar el estado de la flora intestinal.

La microbiota es un conjunto de microorganismos que habitan en nuestro intestino. Según su comportamiento pueden diferenciarse en comensales u oportunistas. Las bacterias comensales son aquellas que no producen ningún efecto negativo a la salud de la persona, en cambio las bacterias oportunistas pueden provocar graves afecciones si su concentración se ve aumentada en exceso. Para que la microbiota se comporte de una manera adecuada debe existir un equilibrio, en el momento que la balanza se desequilibra, aparecen las enfermedades. Las principales funciones de la microbiota son: (14)

- Prevenir la colonización por otros microorganismos patógenos.
- Ayudar a digerir alimentos y absorber nutrientes.
- Producir vitaminas B y K.
- Estimular al sistema inmunitario
- Detoxificación de compuestos
- Síntesis de péptidos activos
- Digestión de compuestos

Entre los factores que desencadenan un estado alterado de la microbiota se encuentran la ingesta sostenida de alimentos altos en grasas y en carbohidratos refinados, así como hábitos poco saludables como el hábito tabáquico, alcoholismo o drogas. La disbiosis intestinal prolongada en el tiempo puede conducir al desarrollo de enfermedades como la diabetes mellitus tipo 2 o la obesidad entre otros (15).

7.2 Endotoxemia metabólica derivada de un desequilibrio en la microbiota intestinal.

Los pacientes con diabetes tipo 2 presentan una menor diversidad de microorganismos intestinales y sobre crecimiento de bacterias oportunistas de carácter inflamatorio. La microbiota de estos pacientes se caracteriza por un aumento del transporte de azúcares, aminoácidos de cadena ramificada, metabolismo del metano, xenobióticos y una disminución de bacterias productoras ácidos grasos de cadena corta y metabolismo de vitaminas y cofactores (15)(16).

Numerosos estudios coinciden que la translocación bacteriana es un desencadenante temprano de un estado inflamatorio. Los lipopolisacáridos cuyo término abreviado es LPS, son moléculas de gran tamaño compuestas por un lípido y un polisacárido, que forman parte de la membrana externa de las bacterias gram-negativas. Estas moléculas son una de las principales causas de inflamación de bajo grado y que además tienen la capacidad de atravesar las paredes intestinales y circular por el plasma unidos a quilomicrones desencadenando una cascada de moléculas inflamatorias como la interleucina 6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8) y factor de necrosis tumoral (TNF α), que cuando se unen a receptores TLR-4 impiden la unión de la insulina a sus receptores y provoca diabetes y resistencia a la insulina (17).

Parece ser que existe una estrecha relación entre un aumento de la concentración plasmática de LPS inducida por una alimentación alta en grasas y desarrollar endotoxemia metabólica (18) (19). Además, las dietas ricas en grasas aumentan drásticamente la permeabilidad intestinal por un mecanismo asociado con una expresión reducida de proteínas de unión estrecha epitelial. Este hecho sugiere que la ingesta de una dieta alta en grasa y el tipo de bacterias que aumentan de concentración debido a esta dieta, están relacionadas con la permeabilidad intestinal y la aparición de endotoxemia metabólica (19).

7.3 Sistema endocanabinoide.

El sistema endocanabinoide (ECB), es un sistema de señalización implicado en la regulación del metabolismo y la homeostasis calórica. El sistema ECB está compuesto por lípidos endógenos que activan receptores específicos acoplados a proteínas G denominados receptores cannabinoides 1 y 2 están ampliamente presentes en todo el cuerpo, y sus niveles tisulares están regulados por el equilibrio entre la síntesis y la inactivación.

Se ha demostrado que la microbiota intestinal modula el tono ECB en el intestino ya que controla la permeabilidad intestinal y los niveles plasmáticos de LPS mediados a través del receptor CB-1.

La microbiota controla la función de la barrera intestinal y la aparición de endotoxemia metabólica. La obesidad inducida por la dieta y la obesidad genética se asocian a cambios en la composición de la microbiota intestinal. Esto conduce a la alteración de la función de la barrera intestinal a través de varios

mecanismos, incluida una distribución alterada de las proteínas de unión estrecha ZO-1 y Occludin y un mayor tono del sistema eCB con una mayor expresión de anandamida y CB1R. Estos fenómenos promueven la endotoxemia metabólica e inician el desarrollo de inflamación de bajo grado y resistencia a la insulina en el hígado, los músculos y el tejido adiposo (20).

7.4 Diferencias entre el estado de la microbiota en sujetos sanos y enfermos.

Otro hecho relevante es la estrecha relación entre la dieta y el desarrollo de patologías metabólicas como la diabetes mellitus tipo 2. Así pues los pacientes con diabetes presentan un estado alterado y similar de su microbiota intestinal. En un ensayo abierto de 21 días llevado a cabo con 56 individuos italianos de entre 40 y 77 años de edad, que padecían sobrepeso u obesidad y que además eran pacientes con diabetes tipo 2, se comprobó el potencial de dos enfoques dietéticos diferentes con restricción de energía. El primero de ellos era una dieta rica en fibra la cual estaba compuesta por carbohidratos, legumbres, productos fermentados, sal marina y té verde. La otra dieta fue una dieta control pautada por la sociedad profesional italiana indicada específicamente para pacientes con diabetes tipo 2. Los pacientes fueron asignados al azar a la dieta rica en fibra o a la dieta control. Se recogieron muestras de heces al inicio y al final del estudio a un total de 40 pacientes, 21 pertenecientes al grupo de la dieta rica en fibra y 19 pertenecientes al grupo de la dieta control. Las muestras analizadas de ambos grupos al final del estudio mostraron que los individuos que habían seguido la dieta rica en fibra mostraron niveles más bajos de lipoproteínas de baja densidad, (LDL) y relación entre éstas últimas y lipoproteínas de alta densidad (HDL), LDL/HDL. Finalmente, los investigadores también quisieron observar el efecto de ambas dietas sobre el ecosistema bacteriano intestinal durante el estudio comparando las muestras de los pacientes con muestras de heces de 13 sujetos sanos. Así pues las muestras tomadas antes del inicio de la investigación evidenció la diferencia que hay entre la microflora de un sujeto enfermo a la de un sujeto sano. Las muestras analizadas antes de la intervención dietética concluyó que los sujetos con diabetes tipo 2 poseen un estado de la microflora intestinal alterado y muy similar, donde abundan bacterias de carácter pro inflamatorio como *Collinsella*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus* y disminuyen las bacterias productoras de ácidos grasos de cadena corta como *Bacteroides*, *Prevotella*, *Lachnospira*, *Roseburia* o *Fecalbacterium*. Por otra parte las muestras recogidas al final del estudio, fueron comparadas con sujetos sanos y se observó que apenas había diferencia de diversidad y abundancia microbiana entre sujetos sanos y enfermos, lo que demuestra la eficacia de ambas dietas. Al final del estudio, los sujetos que habían seguido ambas dietas presentaron un aumento de *Fecalbacterium* o *Arkkenmansia*, como también contrarrestaron las concentraciones de los géneros que antes del estudio se encontraban disminuidos. Se observó también una disminución de bacterias pro inflamatorias (16).

Larsen et al realizó un estudio a 36 mujeres cuya edad estaba comprendida entre 31 y 73 años y 18 de las cuales estaban diagnosticadas con diabetes tipo 2. El autor encontró que las proporciones del filo

Firmicutes y la clase *Clostridia* estaban significativamente más reducidas en el grupo diabético frente al control. Además, las proporciones de *Bacteroidetes* a *Firmicutes* y *Bacteroides-Prevotella* a *C. coccoides* se correlacionó positivamente con la concentración de glucosa plasmática. Así pues el género *Betaproteobacteria* estaba altamente enriquecido en diabéticos en comparación con el grupo control (21). Resultados similares encontraron Zhan X et al y su equipo donde estudiaron a tres grupos diferentes, un grupo pre diabético formado por 64 individuos, 13 pacientes recientemente diagnosticados con diabetes mellitus tipo 2 y 44 personas con una tolerancia normal a la glucosa. Mediante la amplificación de la secuenciación del genoma bacteriano los investigadores obtuvieron que los pacientes prediabéticos y los recientemente diagnosticados con diabetes presentaron concentraciones aumentadas de *Clostridia*, *Dorea*, *Prevotella*, *Colinsella* y *Betaproteobacteria*. Así mismo los pacientes con una tolerancia normal a la glucosa presentaron concentraciones aumentadas de *Fecalbacterium prausnitzii*, *Heophilus parainfluenzae* y *akkermansia muciniphila* (22).

Los mismos resultados obtuvieron científicos chinos, donde estudiaron a un grupo compuesto por 145 asiáticos, de los cuales 71 eran casos y 74 controles, a los cuales se les recogieron muestras de ADN microbiano intestinal para llevar a cabo un estudio metagenómico de las bacterias intestinales presentes en sujetos sanos y enfermos. Los investigadores encontraron que casi todos géneros encontrados en el intestino de las personas sanas pertenecían a bacterias productoras de butirato incluyendo *Clostridiales*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prusnitzii*, *Roseburia intestinalis* y *Roseburia inulinivorans*. Por el contrario, los sujetos que padecían diabetes mellitus tipo 2, poseían una microbiota intestinal con gran abundancia de bacterias patógenas oportunistas como *Bacteroides caccae*, *Clostridium hathewayi*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium symbiosum*, *Eggerthella lenta* y *Escherichia coli*. Como dato de interés estos investigadores también encontraron que las especies *Akkermansia muciniphila* y *Desulfovibrio* se encontraban aumentadas en sujetos enfermos, lo cual resulta relevante destacar teniendo en cuenta que ambas especies se relacionan positivamente con propiedades antiinflamatorias (23).

La población europea femenina también fue estudiada por Karlsson et al donde recolectaron muestras de ADN procedentes de materia fecal a 145 mujeres mayores de 70 años. La muestra se dividió tres grupos, un grupo diabético formado por 53 mujeres, 49 intolerantes a la glucosa y 43 féminas con una tolerancia normal a la glucosa. Se observó que las integrantes del grupo diabético presentaban cantidades aumentadas de bacterias con carácter pro inflamatorio como las del género *Lactobacillus gasseri*, *Streptococcus mutans* y *Clostridium clostridioforme*. Así mismo las bacterias con propiedades antiinflamatorias como el género *Roseburia*, y las especies *Bacteroides intestinalis*, *Eubacterium eligens*, *Coriobacteriaceae* y *Bacteroides intestinales* se encontraban disminuidas (24).

7.5 Relacionando la microbiota y los ácidos grasos de cadena corta.

Uno de los componentes de la dieta al que se le ha encontrado un efecto modulador asociado a la microbiota en relación a la diabetes es la ingesta de alimentos que aumentan las bacterias de carácter anti inflamatorio. Dichas bacterias intervienen en multitud de procesos beneficiando a la salud del huésped. Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) son ácidos monocarboxílicos con una cadena de uno a seis átomos de carbono saturados. Son los principales aniones del colon. Se presentan como ácidos libres en el tracto gastrointestinal de los mamíferos, siendo el producto final de la digestión microbiana de los carbohidratos. Los AGCC más importantes son acetato, propionato y butirato (25). En una revisión bibliográfica, la autora *Petra Louis* (26) y su equipo establecieron conexiones entre las bacterias intestinales y las vías metabólicas en las que participaban, así pues el acetato se sintetiza a partir de piruvato por las bacterias intestinales, ya sea través de acetil-CoA o a través de Wood-Ljungdahl, una vía metabólica en la que el acetato se sintetiza a través de la reducción de CO₂ a formiato o a través de la reducción de CO₂ a CO que se combina con un grupo metilo para producir acetil-CoA. Numerosas bacterias participan en esta ruta *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Streptococcus*. El propionato se produce a través de la vía del succinato y también a partir de acrilato con lactato y a través de la vía del propanadiol participando los *Bacteroides*, *Phascolarctobacterium succinatutens*, *Dialister*, *Veillonella*, *Coprococcus catus*, *Salmonella*, *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus obeum*. Por otra parte el butirato es producto de la condensación de dos moléculas de acetil-CoA y su posterior reducción a butiril-CoA por la fosfotransbutirilasa y la butirato quinasa. El butiril-CoA también se puede obtener por la ruta del acetato CoA-transferasa y donde las bacterias encargadas son *Coprococcus comes*, *Coprococcus eutactus* *butyryl-CoA:acetate CoAtransferase route Anaerostipes spp*, *Coprococcus catus*, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium hallii*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia spp* (27).

El receptor de ácidos grasos libres 2 (FFAR2) y el receptor de ácidos grasos libres 3 (FFAR3), son receptores acoplados a proteínas G que se expresan en el intestino y se localizan con un subconjunto de células enteroendocrinas en el epitelio de la mucosa que expresan el péptido YY (PYY). PYY y otras hormonas peptídicas secretadas por las células enteroendocrinas, como las incretinas, péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) y el polipéptido insulínotropo dependiente de glucosa (GIP), son moduladores clave de la homeostasis energética y el metabolismo de la glucosa. Como se ha explicado anteriormente los AGCC son el resultado tras la fermentación de carbohidratos provenientes de la dieta, una vez sintetizados estos metabolitos se unen a sus receptores que provocan la secreción de hormonas como GLP-1, GIP o PYY, que actúan sobre el metabolismo de la glucosa. Para mostrar estos efectos se probó la eficacia de la ingesta de AGCC en 3 grupos de ratones. Al grupo 1 se le administró un suplemento de butirato, al grupo 2 de propionato y al grupo 3 de acetato durante 4 semanas. Al finalizar el periodo se obtuvo que los ratones alimentados con butirato y propionato mostraron una mejora significativa de la tolerancia oral a la glucosa y una reducción de la glucemia en ayunas. Además, los niveles de insulina y leptina en ayunas se redujeron significativamente por la suplementación continuada de AGCC. Por el

contrario al grupo al que se le administró acetato no experimentó ninguna mejoría (28). Por lo tanto la alimentación rica en AGCC parece mejorar los síntomas derivados de la DM tipo 2.

Conclusiones similares obtuvieron *Zhanguo Gao et al*, los cuales realizaron un estudio también en ratones obesos a los que se les administrada una suplementación de butirato. La sensibilidad a la insulina se examinó con pruebas de tolerancia a la insulina se obtuvo que la suplementación con butirato pueda reducir la resistencia a la insulina (29).

Sanna S et al aprovecharon la información de 952 individuos normo glucémicos de los que se disponía secuencia metagenómica intestinal y niveles de ácidos grasos fecales de cadena corta, y los combinaron con estadísticas de asociación de todo el genoma para 17 rasgos metabólicos y antropométricos. El objetivo del estudio era demostrar la relación causal entre la microbiota intestinal, AGCC y el desarrollo de enfermedades metabólicas. Se demostró que el aumento de la producción de butirato se asoció con una mejor respuesta a la insulina después de una prueba oral de tolerancia a la glucosa y que las anomalías de producción o absorción del propionato se relacionaron causalmente con un mayor riesgo de diabetes tipo 2 (30).

La ingesta de probióticos también juega un rol importante en la producción de ácidos grasos. Un estudio con ratas diabéticas a las cuáles se les administró dos tipos de probiótico, *Lactobacillus Q14* y *Lactobacillus Q14* con yogurt, se obtuvo que los ácidos grasos de cadena corta presentaban concentraciones aumentadas y también aumentaron las secreciones de péptido-1 (GLP-1) y péptido YY (PYY) inhibiendo la secreción pancreática y mejorando la tolerancia a la glucosa (31).

7.6 Aminoácidos y riesgo de padecer diabetes mellitus tipo 2.

Algunos estudios se han volcado en estudiar la relación de un alto contenido en aminoácidos de cadena ramificada (BCAA) y su efecto sobre la tolerancia a la glucosa. Los BCAA son un conjunto de aminoácidos esenciales que el cuerpo no puede sintetizar y debemos obtenerlos de la dieta, estos son leucina valina e isoleucina. Una revisión bibliográfica recoge datos de diversos estudios donde plasma cómo actúan los BCAA en el organismo. Actualmente se sabe que la sobreexpresión del gen FTO se relaciona con un aumento de peso corporal, obesidad y DM2. El gen FTO detecta BCAA y activa el complejo mTOR-C1 que participa en la regulación de la transcripción del ARNm en respuesta a concentraciones intracelulares de aminoácidos favoreciendo la síntesis proteica (32). Por lo tanto la elevación de los BCAA, puede actuar en el hipotálamo para reducir la ingesta de alimentos mediante la activación de m-TOR. Parece ser que una alta concentración en BCAA se relaciona con un aumento de la resistencia a la insulina y DM2, ya que una concentración elevada de BCAA estimula el complejo m-TOR, lo que promueve la fosforilación de IRS-1, un receptor insulínico en residuos de serina, favoreciendo la resistencia a la insulina y otros trastornos metabólicos (33)(34).

Dentro del estudio de prevención dieta mediterránea (PreDiMed), se reclutó a un subgrupo de hombres y mujeres de entre 55 y 80 años para comprobar la relación entre la concentración plasmática elevada de BCAA y la resistencia a la insulina. Dentro de este subgrupo se incluyeron a 251 participantes con diabetes mellitus tipo 2 y 694 controles. Los individuos que padecían diabetes mellitus tipo 2 presentaban concentraciones plasmáticas elevadas de BCAA. Los participantes fueron divididos al azar en tres grupos, el primero de ellos debía seguir una dieta mediterránea (MedDiet) suplementada con aceite de oliva virgen extra, el segundo de ellos debía seguir MedDiet suplementada con nueces y el tercer grupo una dieta control. La duración del estudio fue de un año, y los investigadores pudieron comprobar que los pacientes con diabetes que habían seguido tanto la dieta suplementada con nueces como la dieta suplementada con aceite de oliva virgen extra experimentaban reducciones significativas en la concentración plasmática de BCAA siendo más acusado este descenso en los pacientes que seguían la dieta suplementada con aceite de oliva virgen extra (35).

Mismas conclusiones obtuvieron *Chen et al*, que examinaron los marcadores metabólicos de cinco aminoácidos (leucina, isoleucina, valina, fenilalanina y tirosina) a 51 pacientes que a lo largo de 10 años llegarían a desarrollar diabetes mellitus tipo 2 y 51 pacientes sanos. Al principio del estudio no había apenas diferencias entre ambos grupos en los marcadores bioquímicos como la glucosa en ayunas, la hemoglobina glicosilada Hb1Ac, HDL, LDL o el índice de masa corporal (IMC), pero el grupo de individuos que padecería la enfermedad en un futuro presentaba una mayor abundancia en dichos aminoácidos. Se vuelve a demostrar que la concentración sérica plasmática de ciertos aminoácidos predice el desarrollo de diabetes (36).

7.7 Influencia del tratamiento farmacológico sobre la microbiota intestinal.

La metformina es un fármaco antidiabético, que reduce los niveles de glucosa en sangre y que además se ha demostrado que reduce también los niveles de triglicéridos y colesterol LDL en pacientes diabéticos (37). Se conoce que reduce la producción hepática de la glucosa por inhibición del glucógeno, disminuye la absorción de glucosa a nivel de tracto intestinal y aumenta la captación de glucosa a nivel muscular (38).

Existen numerosos estudios que relacionan la variación de la composición de la microbiota intestinal con la toma del fármaco. Un estudio investigó cómo afecta la metformina a la composición de la flora intestinal. Para ello recolectó una muestra de 40 pacientes con diabetes tipo 2 que se dividió en dos grupos, uno compuesto por 18 pacientes que recibieron placebo y 22 pacientes que recibieron una dosis de 1700 mg/d de metformina durante 4 meses. Para observar el impacto de este fármaco sobre la microbiota, se analizaron 131 muestras de materia fecal y se obtuvieron 38 millones de lecturas de secuenciación metagenómica por cada muestra. La taxonomía y los perfiles genéticos se estimaron mediante el mapeo de las lecturas de alta calidad a catálogos de genomas y genes no redundantes

implementados en la utilización y análisis de datos metagenómicos (MEDUSA). Los resultados verificaron que los pacientes tratados farmacológicamente presentaban cantidades aumentadas de los géneros *Bifidobacterium*, *Escherichia*, *Arkenmansia municipihila*, *Proteobacteria* y *Firmicutes*. También presentaron cantidades aumentadas de *Shewanella* y *Blautia* género encargado de la producción de AGCC. Para verificar la eficacia del fármaco, a un subgrupo de los pacientes tratados con placebo, se les comenzó a tratar farmacológicamente con metformina. A los seis meses de tratarlos con el fármaco se analizaron las heces de los pacientes y se obtuvieron los mismos resultados que el primer grupo que recibió metformina al inicio del estudio (39).

Mueller et al realizaron un estudio en pacientes obesos que habían sido sometidos a quimioterapia debido a un tumor en el pasado pero que en la actualidad no estaban en tratamiento oncológico. Se recolectó una muestra de 121 participantes de los cuales el 79% de ellos eran mujeres. La media de edad fue de 60 años. El objetivo del estudio fue determinar los efectos a largo plazo del tratamiento con metformina sobre la microbiota intestinal y los resultados obtenidos fueron semejantes a los obtenidos en el estudio anteriormente nombrado. La muestra se dividió en tres grupos, el primero de ellos estaba representado por participantes tratados con metformina, el segundo estaba compuesto por individuos que habían tenido una pérdida de peso conductual dirigida por el entrenador y el tercer grupo eran pacientes con atención autodirigida. Solo los pacientes que se sometieron al tratamiento con metformina vieron alterada su composición de la microbiota intestinal. Así pues, en comparación con el grupo control, el tratamiento con metformina aumentó *Escherichia Coli* y *Rominnococcus torques* y disminuyó *Intestinibacter barletti* y *Roseburia intestinales* y *Roseburia feacis* a los 6 y 12 meses después de comenzar el estudio (40).

7.8 El uso de probióticos como punto de inflexión para revertir el desequilibrio de una microflora alterada.

Son innumerables los beneficios asociados a la ingesta de probióticos. En un estudio en ratas diabéticas, se probó la eficacia de la ingesta de estos. Para ellos se crearon 5 grupos que se dividían en : grupo control diabético, grupo tratado con metformina, grupo tratado con un probiótico *Lactobacillus Q14*, grupo tratado con yogurt natural y grupo tratado con *Lactobacillus Q 14*+yogurt. Después del tratamiento de 6 semanas, la tolerancia a la glucosa y los niveles de insulina mejoraron en el grupo tratado con metformina, Q14 y Q14 con yogurt, lo que demuestra que la administración de probióticos puede mejorar significativamente la tolerancia a la glucosa en la diabetes tipo 2. Al mismo tiempo los investigadores analizaron muestras fecales de las ratas para comprobar la microflora de las ratas tras los tratamientos impuestos. Comprobaron que las ratas que a las que se le había suministrado Q14, Q14+yogurt y metformina, presentaban una diversidad microbiana muy similar. Así los ratones que pertenecían a estos grupos tenían una abundancia mayor de los géneros *Rominnococcaceae*, *Bacteroides*,

Lachnospiraceae, Fecalbacterium, Bifidobacterium, Butyricimonas, Pseudomonas, Facklamia, Alistipes y Klebsiella (31).

De la misma manera orientaron sus estudios *Ejtahed et al* donde reclutaron a 64 pacientes de entre 30 y 60 años de edad, que padecían diabetes mellitus tipo 2. Los pacientes se dividieron en dos grupos, a uno de ellos se les administró 300 g/día de yogurt con probiótico que contenía *Lactobacillus acidophilus* La5 y *Bifidobacterium lactis* Bb12 y al otro grupo se les administró 300 g/día de yogurt durante un periodo de 6 semanas. Los resultados fueron similares a los del estudio anterior, donde el yogurt que contenía probiótico añadido hizo que disminuyeran los parámetros bioquímicos de la glucosa y la hemoglobina glicosilada (HbA1c) además de aumentar las concentraciones de superóxido dismutasa eritrocitaria y la glutatión peroxidasa, potentes antioxidantes del organismo (41).

Un meta análisis de 12 ensayos controlados aleatorizados, en los que se incluyeron a 770 participantes se observó el efecto de los probióticos en pacientes diabéticos. Los resultados reflejaron que estos podrían reducir significativamente la glucosa en sangre en ayunas y la concentración de insulina sérica. Los resultados confirmaron el efecto de la disminución significativa de los probióticos en el colesterol total y en los triglicéridos, así como una elevación de lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) (42).

7.9 Trasplante fecal y microbiota intestinal.

El trasplante fecal es una técnica que consiste en infundir un preparado de heces de un donante sano e introducirlo en el tubo digestivo de un enfermo con el fin de restaurar el equilibrio microbiano intestinal. La manipulación de la microbiota intestinal mediante el trasplante microbiano fecal es un enfoque prometedor para posibles hallazgos futuros. Se ha establecido que el tratamiento recurrente de *Clostridium difficile* es muy efectivo (43).

Aunque el trasplante fecal es un procedimiento seguro, existe un pequeño riesgo de transmisión infecciosa que puede llevar a fines peligrosos si no se hace un análisis previo exhaustivo mediante analítica sanguínea, estudio de heces y cuestionarios que detecten posibles alteraciones que disminuyan el éxito de la terapia.

En los últimos años se ha estado indagando cerca de las ventajas que supone el trasplante fecal en personas con afecciones previas, el cuál puede disminuir e incluso revertir el transcurso de la enfermedad. Un estudio en hombres caucásicos que presentaban obesidad y síndrome metabólico, fueron divididos en dos grupos, un control y otro el que recibió el trasplante fecal. Dentro del grupo trasplantado se hicieron dos subgrupos para comprobar quiénes respondían al tratamiento y quiénes no. Por lo que el resultado de sujetos fue: 3 sujetos controles, 3 sujetos no respondedores, 3 respondedores

y 5 sanos. Tras el estudio los investigadores concluyeron que el trasplante fecal generaba en la comunidad bacteriana del receptor ciertas modificaciones:

1. Cambios en el perfil de abundancia de virus que se había encontrado en pacientes pre-trasplante fecal.
2. “Virus invasores”, aquellos que subsistían en la microflora del donante y que tras el tratamiento en pacientes enfermos, sobrevivían en su microbiota.
3. Aparición de virus recién activados que estaban presentes por debajo del umbral de detección en los receptores o en los donantes ("nuevos virus")

Los resultados concluyeron que el trasplante de muestras fecales de individuos sanos a individuos enfermos provoca un gran cambio en la diversidad de estos últimos, los cuales tras el tratamiento sólo conservan el 35% de la microflora que tenían previa al tratamiento (44).

Cambios muy satisfactorios encontraron *Zhang et al* donde recolectaron muestras fecales de un grupo étnico chino kazak. Las personas que estaban incluidas dentro de los métodos inclusivos del estudio debían tener entre 20 y 40 años, residentes del mismo lugar durante más de 10 años, que siguieran una dieta saludable además de no padecer enfermedades crónicas durante el período del estudio y no tener antecedentes familiares de enfermedades metabólicas. Las muestras recolectadas fueron preparadas para someter a tratamiento a ratones de 8 semanas de edad. Los ratones fueron divididos en 3 grupos, el primero de ellos, db/m, fueron ratones sin diabetes, el segundo fueron ratones con diabetes a los que se les trasplantó materia fecal diluida con una solución buffer fosfato que contenía solución estéril de glicerina db/db+PBS, y el tercer grupo estaba compuesto por ratones diabéticos a los que se les había trasplantado materia fecal directamente del grupo étnico chino, db/db+KNGT. Los expertos observaron que en el grupo db/db+KNGT se producía una mejora significativa de la glucosa en sangre en ayunas, glucosa postprandial, colesterol total, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad. Los niveles de HDL, se incrementaron también.

En cuanto al estado de la microbiota intestinal, los ratones db/db+PBS experimentaron un incremento de las abundancias relativas de los géneros *Helicobacter hepaticus*, *Escherichia coli*, *Bacteroides acidifaciens*, *Butyricoccus pullicaecorum*, *Escherichia*, *Odoribacter* y *Butyricoccus*. El análisis β -diversity mostró que existían diferencias entre db/m+PBS y db/db+PBS en composición de especies y abundancia. Sin embargo hubo poca diferencia entre composición y abundancia de especies entre los grupos db/db+PBS y db/db+KNGT (45).

La población caucásica también fue objeto de estudio, donde se reclutaron a 18 hombres que padecían síndrome metabólico, los cuales fueron divididos en dos grupos de 9 pacientes. A ambos grupos se les introdujo una solución de heces preparada por el duodeno. Uno de los grupos recibió su propia muestra fecal, mientras que el otro grupo recibió muestra fecal de individuos sanos. Los datos que obtuvieron

apuntan hacia un papel regulador del butirato derivado del metabolismo microbiano intestinal que conduce a la mejora de la sensibilidad a la insulina. Seis semanas después de la intervención, los científicos observaron un aumento de bacterias productoras de butirato como *Eubacterium Halii* o *Roseburia Intestinalis* y una mejora significativa de la sensibilidad a la insulina (46).

7.10 Cómo influye el estado de la microbiota sobre la regulación de vías metabólicas.

El estado de la microbiota intestinal regula las vías metabólicas implicadas directa e indirectamente en el metabolismo de la glucosa. Así pues una microbiota alterada afecta al correcto funcionamiento de las vías metabólicas implicadas en el metabolismo de los aminoácidos, lípidos y metabolitos secundarios. En el estudio de *Candela M et al* citado anteriormente, los autores recalcan que los pacientes con diabetes tipo 2 poseían una baja cantidad de genes envueltos en el metabolismo de D-arginina D-ornitina, D-glutamina y D-glutamato, mientras que se enriquece la expresión de aquellos que participan en vías involucradas en el metabolismo de la tirosina y el metabolismo de la alanina, el aspartato y el glutamato. Esto conduce a una producción reducida de arginina y a un aumento de niveles de alanina. El incremento de alanina está relacionado directamente con el aumento de la ingesta de los niveles de colesterol y el índice de masa corporal. Finalmente en comparación con los controles sanos, la microbiota intestinal de los pacientes con diabetes tipo 2 mostró una mayor abundancia de funciones involucradas en el metabolismo del ácido araquidónico. Un mayor nivel de metabolismo del ácido araquidónico en la microbiota intestinal de pacientes con diabetes Tipo 2, junto con el aumento de la biosíntesis de azúcares policétidos, metabolitos bacterianos secundarios con una amplia función biológica, podría ser el resultado del estado inflamatorio del intestino en estos pacientes (16).

En un estudio donde estudiaron la relación de los aminoácidos de cadena ramificada y su relación con el desarrollo de diabetes tipo 2, también expusieron cómo una elevación de la concentración de estos aminoácidos activa la vía m-TOR la cual conduce a la resistencia a la insulina mediante la fosforilación del receptor de insulina. Los BCAAs activan el factor NF-Kb que libera moléculas proinflamatorias (Interleucina6, factor de necrosis tumoral y molécula de adhesión intracelular 1). Estas moléculas pro inflamatorias contribuyen a la resistencia a la insulina (33).

En otro estudio en donde se les administraba un preparado de *Lactobacillus* Q14 con yogurt a ratas diabéticas, observó que la expresión de los genes G6P y PEPCK en ratas diabéticas disminuyó considerablemente. Cuando la expresión de estos genes se encuentra aumentada, existe un incremento de la glucosa en sangre, ya que la glucosa hepática 6-fosfato (G6P) y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) son enzimas críticas en la gluconeogénesis que responden a la activación por glucagón e inactivación por insulina (31)

En el caso de la metformina también se encontraron evidencias significativas. Los científicos que estudiaron como la metformina altera la microbiota de los pacientes con diabetes tipo 2 encontraron que la toma de este fármaco altera 62 vías metabólicas donde se incluyen la vía del acetato y algunas vías involucradas en el metabolismo de la glucosa (40). Por otra parte en el estudio de *Wu et al* hacen referencia a un estudio en el que mostró que la fosforilación de las acetil-CoA carboxilasas 1 y 2 por AMK es necesaria para observar los efectos sensibilizadores de la metformina sobre la insulina (39).

Está más que comprobado que la microbiota regula la expresión génica. HDAC3 es una enzima que regula la expresión génica mediante la desacetilación de histonas. El estudio con ratones diabéticos de *Zhang P.P* nombrado anteriormente confirma que la bacteria *Arkenmansia Munciphila* aumenta la expresión de HDAC3 el cual activa las células de grasa marrón para quemar azúcar y grasa aumentando así el metabolismo y favoreciendo la pérdida de peso y contrarrestar la diabetes (45).

8 Discusión

La endotoxemia metabólica, derivada por la permeabilidad intestinal, fomenta la translocación bacteriana y provoca un estado inflamatorio que está estrechamente relacionada con la dieta. Se conoce que las dietas altas en grasas y azúcares simples tienen un efecto muy negativo para el organismo. La adherencia a este tipo de dietas supone una gran posibilidad de desarrollar patologías como la diabetes o la obesidad pertenecientes al síndrome metabólico.

La mayoría de los estudios revisados los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 padecían sobre peso u obesidad. Así pues, el estado de la microbiota de los pacientes obesos es posiblemente muy similar al de los diabéticos lo que sugiere que ambas patologías van de la mano.

El género *arcknemansia munciphila* es un tipo de bacteria que posee grandes beneficios a nivel intestinal, siendo precursora en la formación de ácidos grasos de cadena corta y actuando como molécula antiinflamatoria. En el estudio de *Qui J et al* se encontró que la población diabética china estudiada por este grupo de científicos presentaba cantidades aumentadas de esta bacteria. Lo cual resulta adecuado destacar debido a que los demás estudios recalcan los valores disminuidos de esta bacteria en pacientes diabéticos. . Quizás hasta cierto punto y según la dieta se puedan producir ciertos fenómenos de compensación, en el que el organismo (si se acompaña de la dieta adecuada) pueda favorecer las bacterias que conseguirían alejarlo de la enfermedad, y que se consiga solo hasta cierto grado (siendo los individuos todavía diabéticos).

Lo mismo ocurre con el género *Roseburia*, todos los estudios reportados a este TFG acerca de la metformina, evidencian el impacto del fármaco sobre la microbiota intestinal, favoreciendo el aumento de bacterias beneficiosas y disminuyendo la cantidad de bacterias oportunistas. El estudio de *Mueller et*

al destaca que la ingesta del fármaco en un periodo prolongado de tiempo produce una disminución de *Roseburia intestinalis* y *Roseburia faeci*, especies relacionadas con la producción de ácidos grasos de cadena corta. Esta evidencia hace cuestionar el poder del fármaco para el tratamiento de la diabetes, ya que según este estudio el consumo prolongado puede afectar al equilibrio de las bacterias intestinales.

Los probióticos poseen la cualidad de mejorar la salud intestinal del huésped que los ingiere, por eso una ingesta diaria y de manera rutinaria provoca grandes beneficios. Los *lactobacillus* en concreto, son los probióticos más utilizados por la cantidad de propiedades beneficiosas que tienen. Pero cabe destacar que el género *lactobacillus* engloba muchas especies, así pues las especies *lactobacillus casei* y *lactobacillus acidophilus* se emplean con regularidad como probióticos. En el estudio de *Candela M et al* se encontró que los pacientes con diabetes poseían cantidades aumentadas de una especie del género *lactobacillus* que no especifica. Se observa pues, que un mismo género contiene especies que actúan de manera distinta en el organismo.

9 Conclusiones

Los pacientes con diabetes tipo 2 padecen un estado de la microbiota intestinal alterado. Este desequilibrio provoca situaciones de carácter inflamatorio en el organismo, mediado por moléculas proinflamatorias que atraviesan la pared intestinal y viajan a través de la circulación provocando efectos verdaderamente nocivos. Además provoca también una disminución de las bacterias productoras de ácidos grasos de cadena corta, moléculas de carácter antiinflamatorio con un gran poder sobre el organismo. En la actualidad los profesionales médicos hacen uso de parámetros bioquímicos como la glucosa en ayunas o la hemoglobina glicosilada para diagnosticar la enfermedad. Tras esta revisión bibliográfica, se podría realizar a los pacientes un estudio de caracterización del genoma bacteriano intestinal y emplearlo como un nuevo tipo de biomarcador. Además, también se podrían medirse las concentraciones de IL-6, IL-8 y TNF α , moléculas inflamatorias que en pacientes con diabetes se encuentran aumentadas.

De manera precoz también podría medirse la concentración plasmática de BCAA. Según los estudios revisados, los pacientes que presentaban mayor concentración plasmática de estos aminoácidos, tenían mayor posibilidad de desarrollar la enfermedad en un futuro. Con este hallazgo habría que hacer especial hincapié en los suplementos deportivos cuyos principales componentes son los BCAA que se encuentran en el mercado, ya que son consumidos por una gran mayoría de deportistas y no queda constancia de que en altas cantidades puede ser un peligro para la salud del comensal si se abusa de ellos.

Las empresas farmacéuticas han creado fármacos para pacientes con diabetes que ayudan a mejorar la tolerancia a la glucosa y la secreción de insulina, pero se deberían barajar más posibilidades como el

adoptar una dieta adecuada alejada de las grasas y azúcares simples, la práctica regular de ejercicio físico o la ingesta de probióticos y prebióticos para regular el estado de la flora intestinal.

Se ha probado la eficacia del consumo de probióticos, en concreto las clases *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, para la modulación de la microbiota en modelos animales y en humanos, obteniendo unos resultados alentadores. Se ha demostrado que su consumo se asocia a una mayor concentración de bacterias gram positivas (bacterias beneficiosas) y a una disminución de bacterias gram negativas (bacterias de carácter oportunista). Todos los estudios revisados llegan a la misma conclusión, la administración de éstos mejoraba significativamente la tolerancia a la glucosa en pacientes diabéticos. Lo que conlleva a que la población debería de tener una idea más clara acerca de su uso e incluirlos en su dieta diaria, así como alimentos procedentes de fuentes naturales dejando atrás las comidas procesadas.

Los científicos están barajando más posibilidades como es el trasplante fecal. Se trata de una técnica muy antigua, pero que a día de hoy podría ser un gran aliado contra la diabetes u otras patologías. El trasplante fecal consiste en infundir dentro de un paciente enfermo, heces de un donante sano. Los estudios revisados dejan claro que se trata de una técnica esperanzadora ya que los pacientes que recibieron materia fecal procedente de sujetos sanos experimentaron una mejoría significativa en el estado de su microbiota intestinal. El problema es, que esta técnica viene de la mano junto con la adopción de hábitos saludables como una dieta sana y equilibrada o la práctica de ejercicio físico. Si el paciente que ha recibido el trasplante no adopta unos nuevos hábitos, lamentablemente su flora intestinal volverá a su estado inicial de desequilibrio.

10 Listado de abreviaturas

DM → Diabetes Mellitus

MI → Microbiota intestinal

OMS → Organización Mundial de la Salud

IL-6 → Interleucina 6

IL-8 → Interleucina 8

TNF α → Factor de necrosis tumoral

LPS → Lipopolisacáridos

ECB → Sistema endocannabinoide

LDL → Lipoproteínas de baja densidad

HDL → Lipoproteínas de alta densidad

Hb1Ac → Hemoglobina glicosilada

IMC → Índice de masa corporal

AGCC → Ácidos grasos de cadena corta

FFAR2 y FFAR3 → receptor de ácidos grasos libres 2 y 3 (respectivamente)

PYY → Péptido YY

GLP → Péptido similar al glucagón

GIP → Polipéptido insulonorotrópico dependiente de glucosa

.

11 Bibliografía:

1. Lehninger: principles of biochemistry (4th edn) D.L Nelson and M. C. Cox, W.H Freeman&Co., New York, 1119 pp (plus 17 pp glossary), ISBN 0-7167-4339-6 (2004)
2. ADA Position Statement. Classification and diagnosis of diabetes. Diabetes Care 2015;38(Suppl 1):S8-16.
3. Conget I. (2002) Diagnóstico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. Revista española de cardiología. Vol 55, Issue 5. 528-532. [https://doi.org/10.1016/S0300-8932\(02\)76646-3](https://doi.org/10.1016/S0300-8932(02)76646-3)
4. Tapia L, Córdoba E, Picazo B, Ranchal P. (2008) Diabetes MODY. Una causa frecuente de hiperglucemia. Anales de pediatría. 10.1016/s1695-4033(08)75240-8.
5. Sanamé R, Andrés F, Pérez M, Figueredo A, Ramírez E, Jiménez Y. (2016) Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. *Correo Científico Médico*, 20(1), 98-121. Recuperado en 02 de junio de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812016000100009&lng=es&tlng=es.

6. OMS. Informe Mundial sobre diabetes Catalogación por la Biblioteca de la OMS;2016 Disponible en: [9789243565255-spa.pdf;jsessionid=D63B4E139E018F9CCF4C47CAB325C292_\(who.int\)](https://www.who.int/publications-detail/9789243565255-spa.pdf?jsessionid=D63B4E139E018F9CCF4C47CAB325C292_(who.int))
7. Comité de la 8va edición Diabetes Atlas. Diabetes Atlas 2017;8:1-148 Disponible en: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254649/9789243565255-spa.pdf;jsessionid=D63B4E139E018F9CCF4C47CAB325C292?sequence=1>
8. Carlos Crespo, Max Brosa, Aitana Soria-Juan, Alfonso Lopez-Alba, Noemí López-Martínez, Bernat Soria, Costes directos de la diabetes mellitus y de sus complicaciones en España (Estudio SECCAID: Spain estimated cost Ciberdem-Cabimer in Diabetes), Avances en Diabetología, Volume 29, Issue 6, 2013, Pages 182-189, ISSN 1134-3230, <https://doi.org/10.1016/j.avdiab.2013.07.007>
9. Roldán Vences, Alejandro, Ojeda Cruz, Gabriela, & Roldán Vences, Emmanuel Alejandro. (2011). Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 54(1), 28-40. Recuperado en 17 de junio de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422011000100004&lng=es&tlng=es.
10. Gotteland M. (2013) El papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la obesidad y de la diabetes tipo 2. *Revista chilena endocrinología diabetes*. 6(4):155-162.
11. Gibson GR, Roberfroid MB. (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Jun*;125(6):1401-12.
12. Suárez, J.E.. (2013). Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. *Nutrición Hospitalaria*, 28(Supl. 1), 38-41. Recuperado en 12 de mayo de 2022, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000700009&lng=es&tlng=es
13. Rondon, Lisett, Añez Zavala, Maria, Salvatierra Hidalgo, Anadina, Meneses Barrios, Ruth Teresa, & Heredia Rodriguez, Maria Teresa. (2015). Probióticos: generalidades. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 78(4), 123-128. Recuperado em 17 de junho de 2022, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492015000400006&lng=pt&tlng=es.
14. Garcia-Orea Haro (@blancanutri), Blanca. (2022). *Dime qué comes y te diré qué bacterias tienes*. Penguin Random House Grupo Editorial
15. Qin, J., Li, Y., Cai, Z. *et al*. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 490, 55–60 (2012). <https://doi.org/10.1038/nature11450>
16. Candela M, Biagi E, Soverini M, Consolandi C, Quercia S, Severgnini M, Peano C, Turrone S, Rampelli S, Pozzilli P, Pianesi M, Fallucca F, Brigidi P. Modulation of gut microbiota dysbioses in type 2 diabetic patients by macrobiotic Ma-Pi 2 diet. *Br J Nutr*. 2016 Jul;116(1):80-93. doi: 10.1017/S0007114516001045. Epub 2016 May 6. PMID: 27151248; PMCID: PMC4894062.
17. Marius Trøseid, Torunn K. Nestvold, Knut Rudi, Hanne Thoresen, Erik W. Nielsen, Knut T. Lappégård; Plasma Lipopolysaccharide Is Closely Associated With Glycemic Control and Abdominal Obesity: Evidence from bariatric surgery. *Diabetes Care* 1 November 2013; 36 (11): 3627–3632. <https://doi.org/10.2337/dc13-0451>
18. Patrice D. Cani, Jacques Amar, Miguel Angel Iglesias, Marjorie Poggi, Claude Knauf, Delphine Bastelica, Audrey M. Neyrinck, Francesca Fava, Kieran M. Tuohy, Chantal Chabo, Aurélie Waget, Evelyne Delmée, Béatrice Cousin, Thierry Sulpice, Bernard Chamontin, Jean Ferrières, Jean-François Tanti, Glenn R. Gibson, Louis Casteilla, Nathalie M. Delzenne, Marie Christine Alessi, Rémy Burcelin; Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes* 1 July 2007; 56 (7): 1761–1772. <https://doi.org/10.2337/db06-1491>

19. Patrice D. Cani, Rodrigo Bibiloni, Claude Knauf, Aurélie Waget, Audrey M. Neyrinck, Nathalie M. Delzenne, Rémy Burcelin; Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes* 1 June 2008; 57 (6): 1470–1481. <https://doi.org/10.2337/db07-1403>
20. Cani, P. D., Osto, M., Geurts, L., & Everard, A. (2012). Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut microbes*, 3(4), 279–288. <https://doi.org/10.4161/gmic.19625>
21. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, Al-Soud WA, Sørensen SJ, Hansen LH, Jakobsen M. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*. 2010 Feb 5;5(2):e9085. doi: 10.1371/journal.pone.0009085. PMID: 20140211; PMCID: PMC2816710.
22. Zhang X, Shen D, Fang Z, Jie Z, Qiu X, et al. (2013) Human Gut Microbiota Changes Reveal the Progression of Glucose Intolerance. *PLoS ONE* 8(8): e71108. doi:10.1371/journal.pone.0071108
23. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, Liang S, Zhang W, Guan Y, Shen D, Peng Y, Zhang D, Jie Z, Wu W, Qin Y, Xue W, Li J, Han L, Lu D, Wu P, Dai Y, Sun X, Li Z, Tang A, Zhong S, Li X, Chen W, Xu R, Wang M, Feng Q, Gong M, Yu J, Zhang Y, Zhang M, Hansen T, Sanchez G, Raes J, Falony G, Okuda S, Almeida M, LeChatelier E, Renault P, Pons N, Batto JM, Zhang Z, Chen H, Yang R, Zheng W, Li S, Yang H, Wang J, Ehrlich SD, Nielsen R, Pedersen O, Kristiansen K, Wang J. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012 Oct 4;490(7418):55-60. doi: 10.1038/nature11450. Epub 2012 Sep 26. PMID: 23023125.
24. Karlsson, F., Tremaroli, V., Nookaew, I. et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 498, 99–103 (2013). <https://doi.org/10.1038/nature12198>
25. Manrique Vergara, David, &González Sánchez, María Eugenia. (2017). Ácidos grasos de cadena corta (ácido butírico) y patologías intestinales. *Nutrición Hospitalaria*, 34(Supl. 4), 58-61. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.1573>
26. Louis, P., Hold, G. & Flint, H. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat Rev Microbiol* 12, 661–672 (2014). <https://doi.org/10.1038/nrmicro3344>
27. Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Bäckhed F. From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*. 2016 Jun 2;165(6):1332-1345. doi: 10.1016/j.cell.2016.05.041. PMID: 27259147
28. Lin HV, Frassetto A, Kowalik Jr EJ, Nawrocki AR, Lu MM, et al. (2012) Butyrate and Propionate Protect against Diet-Induced Obesity and Regulate Gut Hormones via Free Fatty Acid Receptor 3-Independent Mechanisms. *PLOS ONE* 7(4): e35240. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035240>
29. Gao, Z., Yin, J., Zhang, J., Ward, R. E., Martin, R. J., Lefevre, M., Cefalu, W. T., & Ye, J. (2009). El butirato mejora la sensibilidad a la insulina y aumenta el gasto de energía en ratones. *Diabetes*, 58(7), 1509–1517. <https://doi.org/10.2337/db08-1637>
30. Sanna, S., van Zuydam, N.R., Mahajan, A. et al. Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases. *Nat Genet* 51, 600–605 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0350-x>
31. Ling Qu, Junli Ren, Lei Huang, Bo Pang, Xu Liu, Xiadong Liu, Baolong Li and Yajuan Shan. Antidiabetic effects of *Lactobacillus casei* Fermented Yogurt through Reshaping gut microbiota structure in type 2 diabetes rats. *Journal of agricultural and food chemistry* 2018 66 848), 12696-12705. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b04874

32. Rodríguez-López R, González-Carpio M, Serrano MV, et al. Asociación de polimorfismos en el gen FTO con la obesidad mórbida en la población extremeña. *Endocrinología y Nutrición*. 2010;57(5):203-9
33. Melnik BC. Evidence for acne-promoting effects of milk and other insulinotropic dairy products. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program*
34. Yoon M. S. (2016). The Emerging Role of Branched-Chain Amino Acids in Insulin Resistance and Metabolism. *Nutrients*, 8(7), 405. <https://doi.org/10.3390/nu8070405>
35. Corella, D., Estruch, R., Hernáez, Á., Yu, E., Gómez-Gracia, E., Zheng, Y., Arós, F., Romaguera, D., Dennis, C., Ros, E., Lapetra, J., Serra-Majem, L., Papandreou, C., ... Martínez-González, M. A. (2018). Plasma branched chain/aromatic amino acids, enriched Mediterranean diet and risk of type 2 diabetes: case-cohort study within the PREDIMED Trial. *Diabetologia*, 61(7), 1560–1571. <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4611-5>
36. Chen, T., Ni, Y., Ma, X. *et al.* Branched-chain and aromatic amino acid profiles and diabetes risk in Chinese populations. *Sci Rep* 6, 20594 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep20594>
37. Dra. C. Olga Lidia Pereira Despaigne I y MsC. Maricela Silvia Palay Despaigne. Eficacia de la metformina en pacientes con obesidad exógena. *MEDISAN* 2015;19(2):215
38. Vicente, I y Betancourt, M. (2019). Metformina uso clínico y actualización. *Revista Médica de Honduras*, 87(1), 28-31
39. Wu, H., Esteve, E., Tremaroli, V. *et al.* Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naïve type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nat Med* 23, 850–858 (2017). <https://doi.org/10.1038/nm.4345>
40. Mueller, N. T., Differding, M. K., Zhang, M., Maruthur, N. M., Juraschek, S. P., Miller, E. R., 3rd, Appel, L. J., & Yeh, H. C. (2021). Metformin Affects Gut Microbiome Composition and Function and Circulating Short-Chain Fatty Acids: A Randomized Trial. *Diabetes care*, 44(7), 1462–1471. <https://doi.org/10.2337/dc20-2257>
41. Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition*. 2012 May;28(5):539-43. doi: 10.1016/j.nut.2011.08.013. Epub 2011 Nov 29. PMID: 22129852.
42. Yi-meng Hu, Feng Zhou, Yin Yuan, Yan-cheng Xu. Effects of probiotics supplement in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized trials. Department of Endocrinology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, China
43. GUTIÉRREZ-ARMESTO A. Trasplante de microbiota fecal en infección recurrente por *Clostridium difficile*. Informe de tecnologías emergentes. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía. Consejería de Salud.
44. Manrique, P., Zhu, Y., van der Oost, J., Herrema, H., Nieuwdorp, M., de Vos, W. M., & Young, M. (2021). Gut bacteriophage dynamics during fecal microbial transplantation in subjects with metabolic syndrome. *Gut microbes*, 13(1), 1–15. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1897217>
45. Zhang, P. P., Li, L. L., Han, X., Li, Q. W., Zhang, X. H., Liu, J. J., & Wang, Y. (2020). Fecal microbiota transplantation improves metabolism and gut microbiome composition in db/db mice. *Acta pharmacologica Sinica*, 41(5), 678–685. <https://doi.org/10.1038/s41401-019-0330-9>
46. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JF, Dallinga-Thie GM, Ackermans MT, Serlie MJ, Oozeer R, Derrien M, Druessne A, Van Hylckama Vlieg JE, Bloks VW, Groen AK, Heilig HG, Zoetendal EG, Stroes ES, de Vos WM, Hoekstra JB, Nieuwdorp M. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*. 2012 Oct;143(4):913-6.e7. doi:

10.1053/j.gastro.2012.06.031. Epub 2012 Jun 20. Erratum in: Gastroenterology. 2013 Jan;144(1):250. PMID: 22728514.