

AVANCES FISIOPATOLÓGICOS EN OBESIDAD

La importancia de la microbiota en la obesidad

Francisco J. Tinahones

Servicio de Endocrinología y Nutrición. H. Universitario Virgen de la Victoria. Málaga

Introducción

El término microbiota intestinal hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos reunidos en un nicho ecológico determinado. El ecosistema microbiano del intestino incluye especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastrointestinal y una serie variable de microorganismos vivos que transitan temporalmente por el tubo digestivo. ⁽¹⁾ La microbiota intestinal es heterogénea, y está compuesta mayoritariamente por bacterias, con una minoría de virus, hongos y células eucariotas. El número de células microbianas en el lumen es 10 veces mayor que las células eucariotas del organismo lo que representaría alrededor de 1 kg y medio del peso corporal. Además, el microbioma intestinal -conjunto de genes microbianos- es 100 veces mayor que el genoma humano, así, la adquisición de microbiota intestinal en el momento del nacimiento a partir de la microbiota de la madre puede considerarse como la herencia de un genoma paralelo. ⁽³⁻⁴⁾

La microbiota intestinal juega un papel importante tanto a nivel local como global. En condiciones normales, la microbiota intestinal afecta a la estructura anatómica y fisiológica del intestino aumentando la superficie de absorción, promoviendo la renovación de las células de las vellosidades, incrementando el contenido intraluminal y acelerando el tránsito intestinal. ⁽⁶⁾ Además, estos microorganismos constituyen un enorme potencial enzimático en el intestino, desempeñando una amplia variedad de funciones metabólicas; participando en la digestión y obtención de energía mediante la hidrólisis de los componentes de la dieta (glúcidos, proteínas, lípidos), extracción de nutrientes esenciales, síntesis de vitaminas (K, B12, biotina, ácido fólico y pantoténico), y favoreciendo la absorción de diversos minerales como calcio, fósforo,

magnesio e hierro. ⁽⁷⁾ Otra función importante que también desempeña es inmunomoduladora; al interactuar con el sistema inmunológico, favoreciendo la maduración de las células inmunitarias, ⁽⁸⁾ y contribuyendo de forma importante a la destrucción de toxinas, carcinógenos y evitando que nuestro intestino se colonice por bacterias patógenas. Así, la microbiota intestinal puede ser considerada como un órgano virtual exteriorizado, metabólicamente adaptable, flexible y rápidamente renovable, que contribuye al metabolismo y tiene un papel importante en la obtención de energía y nutrientes a partir de la dieta. ⁽⁹⁾

Nuestra microbiota

Composición de la microbiota intestinal humana

Los microbios colonizan todas las superficies del cuerpo humano que están expuestas al ambiente, la mayoría de los cuales residen en el tracto intestinal. La composición de la microbiota varía a lo largo del tracto gastrointestinal en sus diferentes porciones y también dentro de cada una de éstas, como se resume en la Tabla 1; aumentando en cantidad y complejidad a medida que avanzamos por el tracto gastrointestinal. ⁽¹⁰⁾

El mayor número de bacterias en el tracto gastrointestinal humano reside en el intestino grueso. Los factores que facilitan el desarrollo bacteriano son la elevación del pH próximo a la neutralidad, la disminución de la concentración de sales biliares y de restos de secreción pancreática. Además, en el colon el tiempo de tránsito es lento lo que brinda a los microorganismos la oportunidad de proliferar fermentando los sustratos disponibles derivados de la dieta o de las secreciones endógenas. ⁽¹¹⁻¹²⁾

Tabla 1. Microorganismos predominantes en el tracto gastrointestinal humano.

Estómago	10^4 UFC/g de contenido intestinal	<i>Helicobacter pylori</i> (Filo: <i>Proteobacteria</i>) <i>Lactobacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Streptococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)
Duodeno	10^3 - 10^4 UFC/g de contenido intestinal	<i>Bacteroides</i> (Filo: <i>Bacteroidetes</i>) <i>Lactobacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Streptococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Staphylococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)
Yeyuno	10^5 - 10^7 UFC/g de contenido intestinal	<i>Bacteroides</i> (Filo: <i>Bacteroidetes</i>) <i>Lactobacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Streptococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Bacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)
Íleon	10^7 - 10^8 UFC/g de contenido intestinal	<i>Bacteroides</i> (Filo: <i>Bacteroidetes</i>) <i>Clostridium</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Enterobacteriaceae</i> (Filo: <i>Proteobacteria</i>) <i>Enterococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Lactobacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Veillonella</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)
Colon	10^{10} - 10^{11} UFC/g de contenido intestinal	<i>Bacteroides</i> (Filo: <i>Bacteroidetes</i>) <i>Bacillus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Bifidobacterium</i> (Filo: <i>Actinobacteria</i>) <i>Clostridium</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Enterococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Eubacterium</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Fusobacterium</i> (Filo: <i>Fusobacteria</i>) <i>Peptostreptococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Ruminococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>) <i>Streptococcus</i> (Filo: <i>Firmicutes</i>)

En estos últimos años numerosos estudios han descrito la composición de la microbiota y han demostrado una gran variabilidad en la composición en individuos sanos, encontrándose incluso que los gemelos comparten menos del 50% de sus taxones bacterianos a nivel de especie,⁽¹³⁾ sin embargo este hecho no quiere decir que la genética no desempeñe un papel en el establecimiento y 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⁽¹⁴⁻¹⁵⁾. Las principales bacterias corresponden a tres grandes filos: *Firmicutes* (gram-positivos), *Bacteroidetes* (gram-negativos) y *Actinobacterias* (gram-positivos). *Firmicutes* son el filo que se encuentra en mayor proporción (60%), incluye alrededor de 200 géneros, y los más importantes son los *Mycoplasma*, *Bacillus* y *Clostridium* y a la vez en cada género pueden existir diferentes especies, los *Bacteroidetes* y *Actinobacterias* suponen el 10% cada una de la microbiota intestinal. El resto de los microorganismos que componen la microbiota intestinal pertenecen a más de 10 familias minoritarias.

Establecimiento de la microbiota

El establecimiento de las poblaciones microbianas que colonizan el intestino acompaña al desarrollo del

mismo, ocurriendo los cambios más drásticos en la composición microbiana intestinal durante la primera infancia. Aunque tradicionalmente se ha defendido que la adquisición de la microbiota intestinal comienza en el momento del nacimiento y se va consolidando a lo largo de la vida del individuo, algunas evidencias demuestran que el tracto gastrointestinal del feto en realidad ya está habitado por algunos microorganismos. Sin embargo, la mayoría de las bacterias se adquieren durante y después del nacimiento. El tracto gastrointestinal del recién nacido está expuesto a una gran cantidad de microorganismos, y la madre representa probablemente el factor externo más influyente para el desarrollo del microbioma del bebé, debido a los contactos íntimos durante el parto, alimentación, etc.⁽¹⁶⁻¹⁹⁾ Por tanto, la constitución de la microbiota intestinal se ve afectada por multitud de variables como son: tipo de parto (natural o cesárea), tipo de alimentación (leche materna o artificial), factores medioambientales, culturales y geográficos, entorno familiar, etc.⁽¹⁶⁻²⁰⁾ Los bebés que nacen por vía vaginal tienen comunidades parecidas a las encontradas en la microbiota vaginal de sus madres. En contraste, aquellos nacidos por cesárea poseen una microbiota característica de la piel y predominada por taxones como *Staphylococcus* y *Propionibacterium* spp.⁽¹⁸⁾ Algunos resultados permiten plantear la hipótesis de que el tipo de parto influencia las funciones inmunitarias durante el primer

año de vida a través del desarrollo de la microbiota intestinal, ya que encontramos bebés nacidos por cesárea que tienen un bajo recuento de células bacterianas en muestras fecales y un alto número de células secretoras de anticuerpos.⁽²¹⁾ Además, la lactancia natural es uno de los factores clave en el desarrollo de la microbiota intestinal del neonato, ya que garantiza un aporte continuo de bacterias durante todo el periodo de lactancia.⁽²²⁾

Los siguientes grandes cambios en la composición de la microbiota intestinal se producen tras la introducción de la alimentación sólida y el destete, cuando se comienza a desarrollar una microbiota de mayor riqueza y diversidad. Al mismo tiempo, el sistema inmunitario “aprende” a diferenciar entre las bacterias comensales y las patógenas. La composición bacteriana comienza a converger hacia un perfil de microbiota adulta al final del primer año de vida⁽¹⁶⁾ y se asemeja por completo a la microbiota adulta a los dos 2 años y medio de edad.⁽²³⁾ A partir de esta etapa predominan *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, mientras que en los primeros días tras el nacimiento predominan las *Proteobacterias* y las *Actinobacterias*. Una vez que la microbiota ha alcanzado la madurez, ésta permanece en su mayor parte estable hasta la vejez, cuando se reduce esta estabilidad. El consorcio ELDERMET estudió la microbiota de los ancianos, encontrando una composición característica diferente a la de los adultos jóvenes, particularmente en las proporciones de los grupos *Bacteroides* spp. y *Clostridium*.⁽²⁴⁾

Pérdida de biodiversidad de nuestra microbiota intestinal

La evidencia existente apunta hacia un cambio importante de la microbiota intestinal en las últimas décadas, aumentando la presencia de determinadas especies con descenso del resto, aunque el hallazgo más sorprendente es la pérdida de diversidad microbiana observada en los países desarrollados. Dentro de los factores que han influido en este cambio de nuestra microbiota se encuentran: saneamiento del agua, incremento de cesáreas, aumento del uso de antibióticos en pre-término, reducción de la lactancia, familias pequeñas, aumento del uso de antibióticos y aumento de aseo y uso de jabones antibacterianos.

Uno de los factores más importantes implicados en este hecho es el aumento del uso de antibióticos, objetivándose alteraciones importantes en la microbiota intestinal tras su uso. Ahora hay pruebas convincentes de que existen modificaciones importantes en la microbiota después de un tratamiento con antibióticos.⁽²⁵⁻²⁷⁾ 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.

Muchos estudios han sido publicados al respecto,

Neyrinck y Dekzenne,⁽²⁸⁾ observaron tras la administración de un antibiótico de amplio espectro en roedores obesos una mejora en las alteraciones metabólicas y cambios en filos como Firmicutes, Bacteroidetes y Proteobacteria. Además, varios experimentos⁽²⁹⁾ han demostrado que el uso de tratamientos antibióticos de amplio espectro como la vancomicina puede incrementar la abundancia de *Akkermansia muciniphila* en roedores, reduciendo la incidencia de diabetes. Asimismo, muchos trabajos apoyan en modelos animales que la antibioterapia de amplio espectro reduce significativamente los niveles plasmáticos de lipopolisacáridos (LPS), la inflamación del tejido adiposo visceral, el estrés oxidativo y mejora los parámetros del metabolismo hidrocarbonado.

De otro lado, algunos estudios han asociado la exposición a antibióticos con aumentos de la masa corporal en diferentes circunstancias, como son los primeros meses de la vida, durante la infancia, en sujetos desnutridos, animales, infectados por *H. pylori*, enfermos con fibrosis quística... , sin poder discernir si este aumento de peso es debido a los efectos beneficiosos del tratamiento antibiótico en la prevención o tratamiento de infecciones bacterianas o a través de sus efectos sobre la microbiota, siendo plausible que estén presentes una mezcla de estos dos mecanismos en muchos de los escenarios descritos.⁽³⁰⁻³⁴⁾

Estudios epidemiológicos han apoyado el aumento del riesgo de sobrepeso en la infancia tardía con la exposición a terapia antibiótica en la primera infancia.⁽³⁵⁾ Incluso han relacionado el progresivo aumento de obesidad poblacional con el uso creciente de antibióticos.⁽³⁶⁻³⁷⁾ Durante décadas, dosis subterapéuticas de antibióticos se han utilizado para promover el crecimiento de animales de granja, con incremento de masa grasa, relacionándose incluso el uso creciente de antibióticos con el aumento de la obesidad.⁽³⁸⁻³⁹⁾ En contraste con estas observaciones, la exposición a antibióticos en los primeros años de vida en niños de madres con sobrepeso se ha asociado con un menor riesgo de sobrepeso en la infancia. En conjunto, estos estudios pueden sugerir que la exposición a antibióticos en etapas tempranas de la vida puede perturbar la microbiota intestinal sana, pero por otro lado, también tiene el potencial de modificar una microbiota perturbada hacia un estado más saludable.⁽⁴⁰⁾

Microbiota y obesidad

En las últimas décadas estamos viviendo un incremento espectacular de la prevalencia de enfermedades metabólicas en los países desarrollados o en vías de desarrollo y el vertiginoso incremento de la obesidad está a la cabeza. Factores ambientales como el incremento de la ingesta calórica y el descenso de la actividad física han sido considerados las causas de este espectacular aumento de prevalencia de obesidad y enfermedades metabólicas. Sin embargo, no parece que desde el año 1990 a la actualidad se

haya seguido incrementando la ingesta calórica y el descenso de actividad física en nuestro entorno y sin embargo el crecimiento de la prevalencia de obesidad sigue siendo exponencial, por tanto se está pensando en otros factores ambientales que puedan explicar este incremento y entre estas causas se encuentran los posibles cambios en la microbiota.

Durante el curso de la década pasada, numerosos trabajos publicados sugieren que la microbiota intestinal, y más concretamente sus variaciones en la composición y diversidad, desempeñan un papel importante en el desarrollo de trastornos metabólicos, especialmente diabetes y obesidad. Existen muchos estudios que evidencian profundos cambios en la composición y función metabólica de la microbiota en los sujetos con obesidad. (41-43) Así, la microbiota intestinal está siendo cada vez más reconocida como una pieza clave que conecta genes, medio ambiente, y el sistema inmunológico; viéndose implicada en la regulación de la función metabólica, desarrollo de inflamación de bajo grado y regulación del balance energético.

Varios mecanismos se han propuesto como enlace entre la microbiota intestinal y la obesidad, entre los que se incluyen:

1. Cambios en la proporción de bacterias intestinales podría hacer que predominarán las bacterias que degradan polisacáridos indigeribles y esta composición de la microbiota rentabilizaría más la energía de los alimentos. Concretamente, el incremento de *Firmicutes* observado en animales y sujetos obesos se podría asociarse con un aumento en la capacidad para digerir algunos polisacáridos indigeribles produciéndose tras su actuación monosacáridos y SCFA capaces de ser absorbidos por el huésped obteniendo finalmente energía de sustancias que se eliminarían por las heces sin ser absorbidas (Figura 1). Por lo tanto, existe una microbiota específica que es capaz de obtener más energía de la misma ingesta calórica diaria.

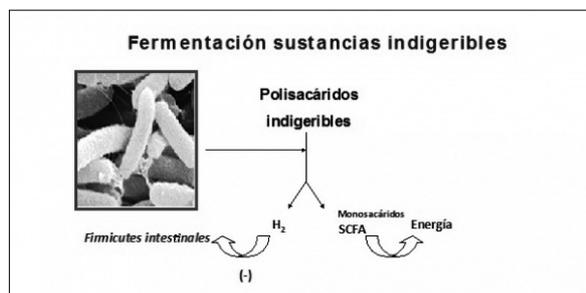


Figura 1. Fermentación sustancias indigeribles.

2.-La generación de metabolitos activos como SCFA o ácidos biliares implicados en efectos antiinflamatorios y de regulación del metabolismo hidrocarbonado-lipídico.

3. Incremento del sistema endocannabinoide con su importante papel en la homeostasis energética mediante la regulación del apetito y la motilidad intestinal.
4. La disminución de la expresión génica intestinal del factor adiposo inducido por el ayuno (FIAF-Fat-Induced Adipocyte Factor) encargado de inhibir la actividad de la lipoproteína lipasa en relación con el almacenamiento hepático y adiposo de grasas.
5. La modulación intestinal derivada de la secreción de péptidos (GLP-1, GLP-2, péptido intestinal YY, ...).

Referencias Bibliográficas

1. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012;489(7415):220-230.
2. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005;308(5728):1635-8.
3. Whitman, W.B., Coleman, D.C., and Wiebe, W.J. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci* 1998 USA 95:6578-6583.
4. Haynes, M., and Rohwer, F. The human virome. In *Metagenomics of the Human Body*, K.E. Nelson, ed. (New York: Springer) 2011:63-78
5. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005;307(5717):1915-20.
6. Guarner F, Malagelada J-R. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003;361(9356):512-9.
7. Bik EM. Composition and function of the human-associated microbiota. *Nutr Rev* 2009;67 Suppl 2:S164-171.
8. Chow, J., Lee, S.M., Shen, Y., Khosravi, A., and Mazmanian, S.K. Hostbacterial symbiosis in health and disease. *Adv. Immunol* 2010;107:243-274
9. Scarpellini E, Campanale M, Leone D, Purchiaroni F, Vitale G, Lauritano EC, et al. Gut microbiota and obesity. *Intern Emerg Med* 2010;5 Suppl 1:S53-56.
10. Pei Z, Bini EJ, Yang L, Zhou M, Francois F, Blaser MJ. Bacterial biota in the human distal esophagus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(12):4250-5.
11. Guamer F. Role of intestinal flora in health and disease. *Nutr Hosp* 2007;22 Suppl 2:14-9.
12. Zhu Y, Michelle Luo T, Jobin C, Young HA. Gut microbiota and probiotics in colon tumorigenesis. *Cancer Lett* 2011;309(2):119-27.

13. Turnbaugh, P.J., Quince, C., Faith, J.J., McHardy, A.C., Yatsunencko, T., Niazi, F., Affourtit, J., Egholm, M., Henrissat, B., Knight, R., and Gordon, J.I. Organismal, genetic, and transcriptional variation in the deeply sequenced gut microbiomes of identical twins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:7503-7508.
14. Benson, A.K., Kelly, S.A., Legge, R., Ma, F., Low, S.J., Kim, J., Zhang, M., Oh, P.L., Nehrenberg, D., Hua, K., et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:18933-18938.
15. Koenig, J.E., Spor, A., Scalfone, N., Fricker, A.D., Stombaugh, J., Knight, R., Angenent, L.T., and Ley, R.E. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108 (Suppl 1), 4578-4585.
16. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007;5(7):e177.
17. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Muylaert D, Kubota H, Sakai T, et al. Transmission of intestinal *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* strains from mother to infant, determined by multilocus sequencing typing and amplified fragment length polymorphism. *Appl Environ Microbiol* 2011;77(19):6788-93.
18. 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(26):11971-5.
19. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere M-F. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol* 2013;21(4):167-73.
20. Vaishampayan PA, Kuehl JV, Froula JL, Morgan JL, Ochman H, Francino MP. Comparative metagenomics and population dynamics of the gut microbiota in mother and infant. *Genome Biol Evol.* 2010;2:53-66.
21. Huurre, A., Kalliomaki, M., Rautava, S., Rinne, M., Salminen, S., and Isolauri, E. Mode of delivery - effects on gut microbiota and humoral immunity. *Neonatology* 2008;93:236-240.
22. Le Huërrou-Luron I, Blat S, Boudry G. Breast- v. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. *Nutr Res Rev* 2010;23(1):23-36.
23. Ravel, J., Gajer, P., Abdo, Z., Schneider, G.M., Koenig, S.S., McCulle, S.L., Karlebach, S., Gorle, R., Russell, J., Tacket, C.O., et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;108:Suppl 1, 4680-4687.
24. Claesson, M.J., Cusack, S., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., de Weerd, H., Flannery, E., Marchesi, J.R., Falush, D., Dinan, T., Fitzgerald, G., et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108 (Suppl 1): 4586-4591.
25. Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M.L., and Relman, D.A. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol* 2008; 6:e280.
26. Jernberg, C., Lofmark, S., Edlund, C., and Jansson, J.K. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J* 2007;1:56-66.
27. Sullivan, A., Edlund, C., and Nord, C.E. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis* 2001;1:101-114.
28. Neyrinck AM, Delzenne NM. Potential interest of gut microbial changes induced by non-digestible carbohydrates of wheat in the management of obesity and related disorders. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010;13(6):722-8.
29. Hansen CHF, Krych L, Nielsen DS, Vogensen FK, Hansen LH, Sørensen SJ, et al. Early life treatment with vancomycin propagates *Akkermansia muciniphila* and reduces diabetes incidence in the NOD mouse. *Diabetologia* 2012;55(8):2285-94.
30. Million M, Lagier J-C, Yahav D, Paul M. Gut bacterial microbiota and obesity. *Clin Microbiol Infect* 2013;19(4):305-13.
31. Moore PR, Evenson A. Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick. *J Biol Chem* 1946;165(2):437-41.
32. Trasande L, Blustein J, Liu M, Corwin E, Cox LM, Blaser MJ. Infant antibiotic exposures and early-life body mass. *Int J Obes* 2013;37(1):16-23.
33. Southern KW, Barker PM, Solis-Moya A, Patel L. Macrolide antibiotics for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(12):CD002203.
34. Garly M-L, Balé C, Martins CL, Whittle HC, Nielsen J, Lisse IM, et al. Prophylactic antibiotics to prevent pneumonia and other complications after measles: community based randomised double blind placebo controlled trial in Guinea-Bissau. *BMJ* 2006;333(7581):1245.
35. Murphy R, Stewart AW, Braithwaite I, Beasley R, Hancox RJ, Mitchell EA, et al. Antibiotic treatment during infancy and increased body mass index in boys: an international cross-sectional study. *Int J Obes* 2014;38(8):1115-9.

36. Luoto R, Kalliomäki M, Laitinen K, Isolauri E. The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years. *Int J Obes* 2010;34(10):1531-7.
37. Dao MC, Everard A, Aron-Wisnewsky J, Sokolovska N, Prifti E, Verger EO, et al. Akkermansia muciniphila and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut* 2016;65(3):426-36.
38. Thuny F, Richet H, Casalta J-P, Angelakis E, Habib G, Raoult D. Vancomycin treatment of infective endocarditis is linked with recently acquired obesity. *PloS One* 2010;5(2):e9074.
39. Trehan I, Goldbach HS, LaGrone LN, Meuli GJ, Wang RJ, Maleta KM, et al. Antibiotics as part of the management of severe acute malnutrition. *N Engl J Med* 2013;368(5):425-35.
40. Allin KH, Nielsen T, Pedersen O. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2015;172(4):R167-77.
41. Andersson AF, Lindberg M, Jakobsson H, Bäckhed F, Nyrén P, Engstrand L. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PloS One* 2008;3(7):e2836.
42. Jang EJ, Park SW, Park JS, Park SJ, Hahm K-B, Paik SY, et al. The influence of the eradication of Helicobacter pylori on gastric ghrelin, appetite, and body mass index in patients with peptic ulcer disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23 Suppl 2:S278-285.
43. Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res* 2013;41(1):e1.