

BACTERIOTERAPIA PREVENTIVA DE LA OBESIDAD EN LA COMUNIDAD DE LOS INDIOS PIMA: EVIDENCIAS CIENTÍFICAS

PREVENTING OBESITY BY BACTERIOTHERAPY IN INDIAN PIMA COMMUNITY: SCIENTIFIC EVIDENCES

TÍTULO CORTO: BACTERIOTERAPIA PREVENTIVA DE LA OBESIDAD

Silvia Llorens-Folgado¹, Ana Pérez Fernández-Rius²

Recibido en septiembre 06 de 2016

Aceptado en noviembre 11 de 2016

Publicado en línea en mayo 15 de 2017

Resumen

Un desequilibrio en la microbiota intestinal (MI) influye en el desarrollo de la obesidad. Una estrategia para tratar la obesidad implicaría restaurar el equilibrio, manipulando la MI. La efectividad del trasplante fecal (TF) en ciertas patologías, la respalda como una terapia alternativa. La comunidad de indios Pima (PI) son referente en el estudio de la etiología de la diabetes mellitus tipo 2 y obesidad. Se analizó el TF como estrategia preventiva en el desarrollo de obesidad en PI. Para ello, se recogieron evidencias científicas mediante una revisión sistemática cualitativa desde el año 2000 al 2013. Los resultados mostraron un aumento del 112% en el número de publicaciones científicas que asocian la salud a la MI. Un 13% de los estudios relacionan una asociación de la MI con la obesidad. No se encontró ningún estudio de la composición de la MI en los PI. Respecto al TF, se encontró que es el tratamiento menos utilizado para restaurar la microbiota. Se concluyó que, existe un creciente interés científico en el estudio de la MI y se evidenciaron dos brechas de investigación: composición de la MI en los PI y estudios acerca del TF, para determinar su efectividad como terapia preventiva de la obesidad.

Palabras clave: Obesidad; trasplante fecal; microbiota intestinal; indios Pima.

Abstract

Intestinal microbiota (MI) imbalance affects obesity development. Strategies to treat obesity involving to restore this balance, by manipulation of the MI. The effectiveness of fecal transplantation (FT) in certain pathologies, supports as an alternative therapy. The community of Pima Indians (PI) are a benchmark in the study of the etiology of diabetes mellitus type II and obesity. FT was analyzed as a preventive strategy in the development of obesity in PI. To do this, scientific evidence was collected through a qualitative systematic review from 2000 to 2013. The results showed an increase of 112% in the number of scientific publications that associate health to MI. 13% relate an



1. Doctora en Ciencias Biológicas. Docente a tiempo completo. Facultad de Medicina de Albacete, Universidad de Castilla - La Mancha. España. Correo: silvia.llorens@uclm.es - <http://orcid.org/0000-0002-2104-5414>

2. Grado en Medicina, Facultad de Medicina de Albacete, Universidad de Castilla - La Mancha. España. Correo: anapfr4@gmail.com

association of MI with obesity. No studies of the MI composition for PI were found. Regarding the FT, was found that this was the treatment less used to restore microbiota. It was concluded that there is a growing scientific interest in the study of MI and two research gaps were evident: the MI composition for PI and studies about the use of FT to determine its effectiveness as a preventive therapy of obesity.

Keywords: Obesity; fecal transplantation; intestinal microbiota; Pima Indians.

INTRODUCCIÓN

La obesidad, definida como una acumulación excesiva de grasa corporal, está asociada a trastornos metabólicos y sistémicos¹. La causa principal es un balance energético positivo, resultado de un aumento del aporte calórico y una disminución del gasto energético. La prevalencia en humanos se está incrementando, alcanzando proporciones epidémicas mundialmente².

El tratamiento de la obesidad incluye una modificación del estilo de vida, fármacos y cirugía bariátrica. Los tratamientos tradicionales basados en las dietas hipocalóricas y el aumento de la actividad física, han tenido cierto éxito en el control de la obesidad. Sin embargo, estas estrategias suelen dar lugar a reducciones de peso limitadas y temporales³.

La etiología de la obesidad es compleja, influyendo factores genéticos y ambientales. Recientemente, nuevas líneas de investigación apuntan a la microbiota intestinal (MI) como un importante factor en la regulación del peso y puede ser en parte, responsable del desarrollo de la obesidad y sus complicaciones^{4,5}.

Las evidencias de la relación entre la obesidad y la composición microbiana intestinal se hicieron patentes cuando la pérdida de peso inducida quirúrgicamente (bypass gástrico) y la ganancia de peso a través de lesiones del núcleo hipotalámico ventromedial se encontraron asociadas con cambios en la ecología microbiana intestinal^{6,7}. Estudios en los que MI de ratones obesos o ratones delgados fue trasplantada a ratones gnotobióticos delgados, mostraron que el contenido genético de la MI contribuye a la obesidad. Los ratones que recibieron microbiota de ratones obesos extrajeron más calorías de los alimentos, presentaron resistencia a la insulina y

un aumento significativo de grasa así como ganancia de peso respecto a los ratones que recibieron microbiota de ratones delgados^{8,9}.

Estudios experimentales en animales y en pacientes obesos, sugieren que la composición de la MI es diferente a sus correspondientes controles delgados (en animales: heterocigotos para la mutación del gen de leptina *ob/+* o sin mutación *+/+* y en humanos: índice de masa corporal entre 18.5 y 25 kg/m²). Varios de estos estudios muestran que la relación entre las dos comunidades microbianas intestinales más destacadas, Firmicutes (F) y Bacteroidetes (B), se encuentra alterada (ratio F/B) con reducción de Bacteroidetes y aumento de Firmicutes¹⁰⁻¹². Esta alteración en la ratio, puede ser modulada por una reducción de peso¹¹.

El estudio de la MI ayudará a comprender mejor la etiología de diversas patologías.

Bacterioterapia: Trasplante de heces como alternativa efectiva de terapia preventiva de la obesidad

Derivado de las evidencias descritas anteriormente, se ha propuesto que la manipulación de la MI podría ser una importante estrategia terapéutica en las patologías asociadas a una disbiosis. La bacterioterapia implica manipulación intencionada de la MI; modulando la dieta de la MI (administración de prebióticos y probióticos) o mediante un trasplante fecal (TF)¹³

El TF (también denominado trasplante de heces, bacterioterapia fecal o trasplante de la microbiota intestinal), es un tipo de terapia en la que se trasplantan heces del intestino de una persona sana al intestino de una persona enferma con intención curativa¹⁴.

El primer documento del TF en humanos data de 1958¹⁵. Hoy en día, esta terapia es el mejor tratamiento conocido para la diarrea infecciosa recurrente por *Clostridium difficile* (DIRCD). Normalmente, esta infección se trata con antibióticos (vancomicina o metronidazol)¹⁶, los pacientes responden al tratamiento, pero se produce una alta tasa de recurrencias el 15-30% de los casos^{17,18}, lo cual promueve la necesidad de terapias alternativas. El TF corrige el desequilibrio en la microbiota que causa esta enfermedad¹⁹, comprobándose una eficacia superior del TF (81 %-94% de los pacientes no presentaron recurrencias) frente al 23-31% tratados con vancomicina²⁰. TF se ha utilizado con éxito en otras enfermedades gastrointestinales que presentan disbiosis como Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII)²¹, Síndrome de Intestino Irritable (SII) y estreñimiento idiopático²².

El potencial terapéutico del TF en obesidad queda reflejado en un estudio clínico doble ciego, en el que se trasplantaron heces de hombres delgados a pacientes obesos. Los individuos receptores redujeron sus valores de triglicéridos en sangre y aumentaron la sensibilidad a la insulina respecto a los pacientes obesos que fueron trasplantados con sus propias heces²³.

Los indios Pima como referente de estudio de la etiología de la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad

La comunidad de los indios Pima (PI) (Gila River Indian Community), ubicada en el desierto de Arizona, cerca del río Gila en la Sierra Madre Occidental, es una de las poblaciones más estudiadas por su alta prevalencia e incidencia de DM2 y su alto riesgo de obesidad, desde 1965 participan en un estudio epidemiológico de DM2 y sus complicaciones²⁴.

La obesidad tiene un fuerte efecto en la incidencia de la diabetes en los PI, siendo mucho más baja en PI delgados, aunque los dos padres padezcan DM2. En este sentido, varios investigadores, proponen que se realicen estudios para prevenir y controlar la obesidad para reducir el desarrollo de DM2 en esta población²⁵.

la MI y la salud, relación entre la MI y obesidad en humanos así como correlación entre ratio F/B y obesidad. Se determinó, el número de publicaciones existentes respecto a la utilización de la bacterioterapia (probióticos, prebióticos y TF) y uso de antibióticos en obesidad. Y por último, el número de publicaciones existentes sobre DM2 y obesidad en PI, y composición de la MI en PI.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se ha realizado una revisión sistemática cualitativa (RSC), en la que se presentan las evidencias científicas (número de artículos publicados) para cada relación expuesta anteriormente desde inicios del año 2000 hasta finales del año 2013. Se seleccionó una única base de datos bibliográfica textual, MEDLINE (PubMed), para obtener así datos generalistas del estudio planteado.

La revisión se hizo durante los meses de junio y julio del año 2014.

Las estrategias de búsqueda se ejecutaron, identificando conceptos mediante lenguaje natural en la mayoría de los casos y lenguaje controlado en otros (MeSH).

Para la selección de estudios se utilizaron los siguientes criterios de inclusión y exclusión: se realizó una restricción idiomática, incluyéndose únicamente trabajos publicados en inglés. Para una parte del diseño de algunas estrategias de búsqueda, se restringió la búsqueda a humanos, mientras que en el resto se incluyen artículos en los que no se ha hecho distinción entre humanos y otras especies. Se aplicó una restricción por fecha de publicación, desde el 1 de enero del año 2000 hasta el 31 de diciembre del año 2013. Se incluyeron resúmenes y artículos con texto completo. No se utilizó restricciones por edad ni sexo. Se excluyeron revisiones narrativas, cartas al director, tesis, periódicos, conferencias, noticias, comentarios y editoriales. En relación a la selección de estudios que implicaban a PI, se incluyeron publicaciones en las que la comunidad de PI fue la población objeto de estudio (estudios genómicos, epidemiológicos, clínicos), excluyéndose aquellas en las que únicamente eran citados como referencia.

La extracción de datos, se llevó a cabo por las dos autoras de la revisión de forma independiente. Se realizó una primera selección de estudios mediante la lectura de título y resumen, y aquellos que en principio cumplían los criterios de inclusión fueron revisados con la lectura del texto completo. Los desacuerdos o dudas se resolvieron por consenso.

Por tanto esta revisión tiene por objetivo, recoger evidencias científicas para considerar el potencial terapéutico del TF como estrategia preventiva o de tratamiento en el desarrollo de obesidad en la comunidad de PI.

Para ello, se examinó el interés científico (definido como el número de estudios publicados sobre un tópico determinado) de los siguientes tópicos: relación entre



Estrategias de búsqueda

Las estrategias de búsqueda mediante terminología libre se muestran en la Tabla 1.

Para la búsqueda de evidencias científicas respecto a la comunidad de PI, la estrategia fue diseñada tanto

con la palabra “Pima”, como “Gila River Indian Community”. Respecto al trasplante fecal, la estrategia de búsqueda se realizó con el nombre de faeces transplantation, anteriormente se probaron diferentes estrategias; “fecal transplant”, “feces transplantation” que no dieron resultados.

Tabla 1. Resumen de las estrategias de búsquedas empleadas.

Estudios realizados (2000-2013) acerca de:	Estrategias de búsqueda
Microbiota Intestinal en los últimos años	Gut microbiota
Relación entre MI y obesidad	Gut microbiota AND obesity
Relación entre MI y obesidad en humanos	Gut microbiota humans AND obesity humans
Correlación entre obesidad y ratio F/B	Firmicutes Bacteroidetes ratio AND obesity
DM2 y obesidad en indios Pima	Diabetes AND obesity AND Pima(*)
Composición de la MI en indios Pima	Gut microbiota AND Pima(*)
Relación entre obesidad y antibióticos	Gut microbiota AND obesity AND antibiotics
Relación entre obesidad y prebióticos	Gut microbiota AND obesity AND prebiotics
Relación entre obesidad y probióticos	Gut microbiota AND obesity AND probiotics
Relación entre obesidad y trasplante fecal	Gut microbiota AND obesity AND faeces transplantation

(*) Se utilizó en la estrategia de búsqueda, tanto la palabra “Pima”, como “Gila River Indian Community”. Fuente: elaboración propia.

RESULTADOS

Interés en el estudio de la MI

El número de artículos publicados fue de 3547. La Figura 1, muestra un aumento progresivo en la publicación de artículos referentes a la consulta, año tras año. Este resultado es indicativo de un creciente interés científico sobre esta área de investigación, que se refleja en el incremento de un 112% del número de artículos publicados, desde el año 2000 al 2013. Para determinar en qué periodo empezó a despuntar esta área de investigación, se calculó el incremento de artículos publicados en cada periodo anual (Figura 2), observándose un despunte en el periodo 2007-2008.

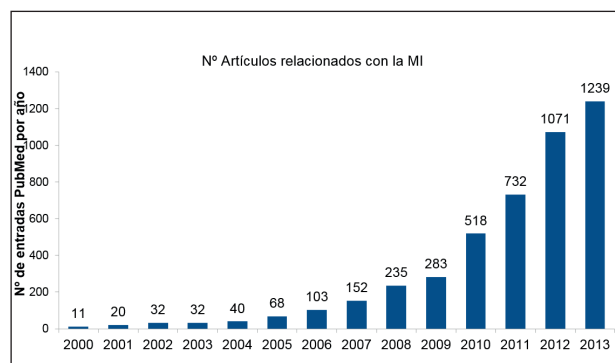


Figura 1. Número de artículos publicados por año relacionados con la MI, desde el año 2000-2013. Fuente: PubMed: “Results by year graphs”, muestra las entradas correspondientes a un determinado año, detallando el número de artículos publicados.

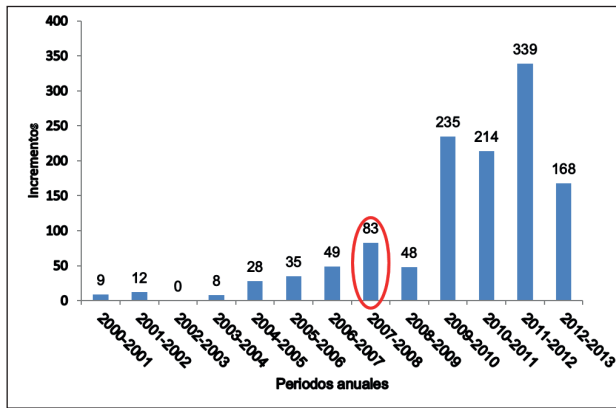


Figura 2. Incremento del número de artículos publicados relacionados con la MI en cada periodo anual. Fuente: elaboración propia.

Relación entre MI y obesidad y correlación F/B y obesidad

El número de artículos publicados que relacionan el estudio de la MI en la obesidad, fue de 451 estudios originales, que representa el 13% respecto al total mostrado en el apartado anterior. Para poder evidenciar la relevancia de este dato, se realizó una búsqueda

con dos enfermedades metabólicas, con alta tasa de prevalencia, DM2 y síndrome metabólico y su asociación con la MI (estrategias de búsqueda no mostradas). Para estos estudios se obtuvo un porcentaje del 17% de trabajos respecto del total. Por lo que, se consideró que el porcentaje obtenido para la obesidad (13%), es relevante para evidenciar que una relación entre la MI y la obesidad está siendo investigada (Figura 3a).

Se determinó el número de estudios relacionados con MI y obesidad sólo en humanos, descartando otras especies animales. El número de artículos fue 289; este dato representa que el 64% (Figura 3b) de los estudios se están enfocando en la relación entre la MI y la obesidad.

En un intento de recoger evidencias de correlación entre ratio (F/B) aumentada y obesidad, se encontraron 17 artículos en los que existe asociación entre los términos: firmicutes bacteriodetes ratio y obesidad. No se pudo diseñar una estrategia de búsqueda que identificase artículos que apoyaban o no esta correlación, por lo que se llevó a cabo una revisión manual de los documentos encontrados. Se comprobó que 13 artículos apoyan una correlación positiva entre la ratio F/B aumentada y obesidad y cuatro no apoyaban esta correlación (Figura 4).

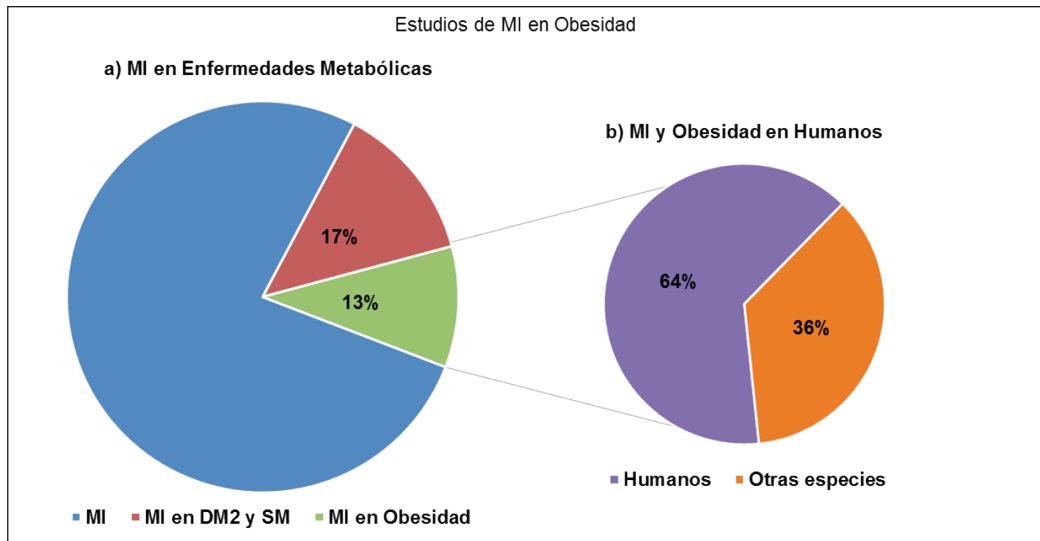


Figura 3.- a) Porcentaje del número de artículos en los que existe una asociación entre la MI con la obesidad (color verde) y con otras enfermedades metabólicas (color rojo), respecto del número de artículos total obtenido (color azul), b) Porcentaje del número de artículos obtenido para investigación realizada en humanos (color morado) o en otras especies animales (color naranja), respecto al total. MI: microbiota intestinal; DM2; diabetes mellitus tipo 2, SM: síndrome metabólico. Fuente: elaboración propia.

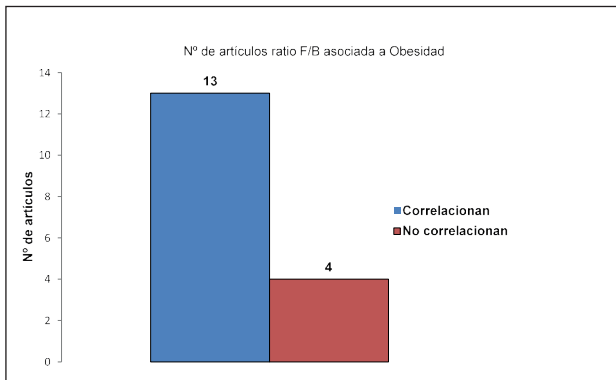


Figura 4.- Número de estudios que apoyan una correlación ratio F/B aumentada con obesidad y número de estudios que no apoyan esta correlación, en el rango de años establecido; 2000-2013. Fuente: elaboración propia.

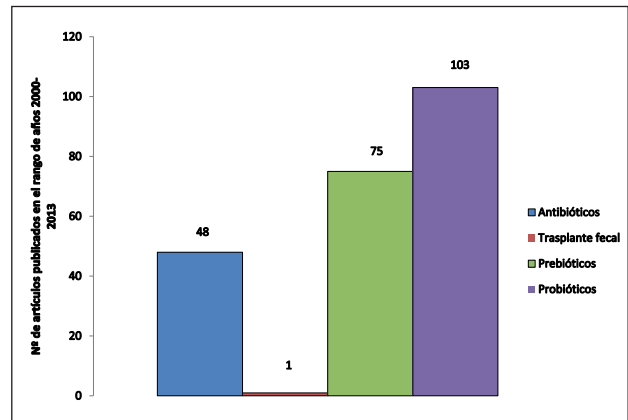


Figura 5.- Número de estudios publicados sobre terapias alternativas o complementarias (antibióticos, prebióticos, probióticos y trasplante fecal) en obesidad, en el rango de años establecido. Fuente: elaboración propia.

Comunidad PI y su relación con DM2 y Obesidad

El número de publicaciones que relacionan a los indios Pima, con la DM2 y la obesidad fue de 124, en los cuales están incluidos estudios con individuos: sanos, con DM2 establecida (obesos y no obesos), obesos con tolerancia normal a la glucosa o con hiperinsulinemia. 10 de los cuales fueron excluidos ya que la población de PI no era objeto de estudio, únicamente servía de referencia, entre ellos se encontraron siete estudios realizados en otras poblaciones (alemanas, canadienses, tonganas, japonesas, danesas, de la India), uno en modelos animales y dos no escritos en inglés.

Comunidad PI y estudio de la composición de su MI

No se encontraron artículos que estudiaran la composición de la MI en los PI.

Utilización de la bacterioterapia en obesidad

La Figura 5, muestra los resultados obtenidos en relación al número de publicaciones referidas con el uso de cada una de las terapias (administración oral de antibióticos, prebióticos y probióticos y TF) en obesidad, observándose una gran diferencia entre el número de artículos publicados asociados a obesidad entre antibióticos, prebióticos y probióticos con respecto al TF, del que se obtuvo únicamente un resultado.

DISCUSIÓN

Una de las ventajas de las RSC es el planteamiento de nuevas hipótesis para futuros estudios, detectando áreas en que la evidencia científica es escasa²⁶. En este trabajo se han podido identificar dos brechas de investigación en las que se ha puesto de manifiesto una cantidad de evidencias científicas insuficientes tanto en el estudio de la composición de la MI en los PI, como en estudios relacionados con la aplicación del TF en la obesidad.

El aumento progresivo del número de artículos publicados acerca de la MI, evidencian la importancia que esta área de investigación está adquiriendo. El incremento de artículos obtenido en el periodo del 2007-2008 destaca sobre el de los anteriores períodos estudiados; este dato fue investigado y se comprobó que este periodo coincide con el año en que se inició el Proyecto Microbioma Humano (HMP), el cual pretende crear una colección de referencia de datos de la microbiota humana para estudios sobre epidemiología y ecología de la microbiota en estados patológicos²⁷.

Al determinar el total de artículos en los que se asociaba la MI con la obesidad, se comprobó que más de la mitad de los artículos correspondían a estudios en modelos humanos, que podría asociarse a un interés clínico en definir las características de la MI que contribuyen al

estado obesogénico. Muchas de estas publicaciones están centradas en el papel que la MI tiene en los mecanismos involucrados en la extracción de calorías de la dieta y almacenamiento en el tejido adiposo del hospedante^{28,29}.

Aún no está del todo esclarecido el mecanismo por el cual el cambio de las actividades metabólicas de la MI resulte en una ganancia de peso, pero las evidencias apuntan a una alteración en la composición de la MI, principalmente en la ratio F/B, la cual está aumentada en individuos obesos. Este aspecto está siendo muy discutido ya que, aunque nuestros resultados muestran un mayor número de publicaciones que correlacionan obesidad y cambios en la ratio F/B, y ello apunta a que la ratio F/B aumentada es una característica en individuos obesos, también se han encontrado investigaciones que no han encontrado cambios^{30,31}. En relación a los trabajos que muestran ratio F/B aumentada en obesidad, se han encontrado patrones diferentes; hay autores que muestran aumento de firmicutes y reducción de bacteroidetes³² otros sin embargo, únicamente han encontrado reducción en bacteroidetes³³. Las causas de estas controversias están relacionadas con las diferentes metodologías analíticas utilizadas en los estudios (PCR, 16S rRNA total o parcial, hibridación fluorescente in situ (FISH) etcétera), así como diferencias en individuos como índice de masa corporal, composición de la dieta, la edad, el sexo, etnias o razas³⁴.

La investigación acerca del microbioma humano es importante por su potencial impacto científico y médico. Por ello, la tendencia actual está enfocada al estudio de los mecanismos de actuación de la MI, mediante ensayos genómicos y funcionales de las comunidades microbianas en individuos humanos genotipados y fenotipados para la obesidad²⁷. En este sentido, este trabajo se ha centrado en la comunidad de los indios Pima, por su inestimable contribución al estudio de la DM2 y la obesidad. Sin embargo, no se ha encontrado ningún estudio acerca de la composición de su MI. El estudio de la composición de su MI podría aportar más datos acerca de estas dos patologías. En otras comunidades, como los Amish de Pennsylvania, estos estudios ya se están llevando a cabo³⁵, concluyendo que es la estructura (en forma de comunidades funcionales interactivas) de la composición de tres grupos (prevotella, bacteroidetes, y firmicutes), la que jugaría un papel en obesidad.

Respecto a la manipulación de la MI en obesidad, nuestros resultados muestran que la administración de probióticos es el más utilizado (mayor número

de publicaciones), seguido de los prebióticos y los antibióticos. Los probióticos han mostrado eficacia en el tratamiento o prevención de gastroenteritis viral aguda, diarrea postantibióticos, estreñimiento, alergias infantiles, enterocolitis necrotizante y EII³⁶. Pero los resultados sobre su efectividad son dispares y contradictorios³⁷⁻³⁹ e incluso se ha sugerido que presentan riesgos de mortalidad en pacientes inmunocomprometidos o gravemente enfermos⁴⁰. Los prebióticos, muestran eficacia en el tratamiento de la DIRCD⁴¹, en obesidad⁴² o en enfermedad de Crohn⁴³, pero pueden tener efectos adversos (revisado en ⁴⁴). Por otra parte, los antibióticos son capaces de modificar la composición de la MI. Sin embargo, a largo plazo pueden ser perjudiciales ya que destruyen parte de MI beneficiosa y aumentan la susceptibilidad a infecciones bacterianas^{45,46}.

El menor número de publicaciones corresponde a la terapia del TF; esto podría ser debido a la reserva mostrada en los pacientes hacia esta terapia⁴⁷, aunque su aceptabilidad va en aumento gracias al éxito obtenido en la DIRCD; un estudio recoge que el 97% de los pacientes prefirieron el TF frente al antibiótico y el 53% especificaron el TF como primera línea terapéutica⁴⁸.

La importancia del TF se evidencia en que está siendo propuesta como terapia en una gran variedad de enfermedades en las que se asocia la patología a una disbiosis, como autismo, trastornos neurológicos o autoinmunes⁴⁹ y Parkinson⁵⁰. Como se comentó en la introducción, ya hay estudios que revelan indicios de éxito del TF como prevención en el desarrollo de la obesidad²³.

CONCLUSIÓN

Existe un interés científico y médico creciente en el estudio de la asociación entre MI y obesidad, pudiendo utilizarse la ratio F/B como potencial diana para el diseño de estrategias preventivas o terapéuticas en la obesidad de humanos. Este trabajo ha identificado dos posibles futuras líneas de investigación: el estudio de la composición de la MI en los PI y estudios relacionados con la aplicación del TF en la obesidad, puesto que en ellas existe una falta de evidencias científicas. Si bien las técnicas de estudio de la composición de la MI son costosas y la obesidad y DM2 son enfermedades multifactoriales, la utilización de estudios clínicos aleatorios que ayuden a definir las características de la MI en la población de PI (cuya variabilidad genética y ambiental es muy limitada) aportaría conocimiento en la etiopatogenia de la obesidad y DM2.

DECLARACIÓN SOBRE CONFLICTO DE INTERESES

Los autores de este manuscrito declaran no tener ningún tipo de conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006 14;444(7121):860-7.
2. [No authors listed]. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Obesity and overweight; World Health Organization. (WHO). Geneva, Switzerland. World Health Organ Tech Rep Ser. 2000;894:i-xii, 1-253.
3. Pan C, Yoo HJ, Ho LT. Perspectives of CB1 Antagonist in Treatment of Obesity: Experience of RIO-Asia. *J Obes*. 2011; (2011;957268).
4. Cani PD, Joly E, Horsmans Y, Delzenne NM. Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. *Eur J Clin Nutr*. 2006;60(5):567-72.
5. Tilg H, Kaser A. Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. *J Clin Invest*. 2011; 121(6):2126-32.
6. Calvani R, Miccheli A, Capuani G, Tomassini Miccheli A, Puccetti C, Delfini M, et al. Gut microbiome-derived metabolites characterize a peculiar obese urinary metabolite. *Int J Obes (Lond)*. 2010; 34(6):1095-8.
7. Clement K. Bariatric surgery, adipose tissue and gut microbiota. *Int J Obes*. 2011; 35 Suppl 3:S7-15.
8. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101(44):15718-23.
9. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006; (444): 1027-31.
10. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006; (444):1022-3.
11. Jumpertz R, Le DS, Turnbaugh PJ, Trinidad C, Bogardus C, Gordon JI, et al. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr*. 2011; 94(1):58-65.
12. Ravussin Y, Koren O, Spor A, LeDuc C, Gutman R, Stombaugh J, et al. Responses of gut microbiota to diet composition and weight loss in lean and obese mice. *Obesity*. 2012; 20(4):738-47.
13. Huovinen P. Bacteriotherapy: the time has come : Bacterial interference is an increasingly attractive approach to prevention and therapy. *BMJ : British Medical Journal*. 2001;323(7309):353-354.
14. Borody TJ, Paramsothy S, Agrawal G. Fecal microbiota transplantation: indications, methods, evidence, and future directions. *Curr Gastroenterol Rep*. 2013; 15(8):337.
15. Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery*. 1958; 44(5):854-9.
16. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults IDSA. 2010; 31(5):431-55.
17. Huebner ES, Surawicz CM. Probiotics in the prevention and treatment of gastrointestinal infections. *Gastroenterol Clin North Am*. 2006; 35(2):355-65.
18. Bakken JS. Fecal bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe*. 2009; 15(6):285-9.
19. Borody TJ, Warren EF, Leis SM, Surace R, Ashman O, Siarakas S. Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions. *J Clin Gastroenterol*. 2004; 38(6):475-83.
20. Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2013; 368(5):407-15.
21. Anderson JL, Edney RJ, Whelan K. Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012; 36(6): 503-16.
22. Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol*. 2003; 37(1):42-7.
23. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojarvi J, Kootte RS, Bartelsman JF, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*. 2012; 143(4):913-6.
24. Pavkov ME, Hanson RL, Knowler WC, Bennett PH, Krakoff J, Nelson RG. Changing Patterns of Type 2 Diabetes Incidence Among Pima Indians. *Diabetes Care* 2007; 30(7): 1758-63.
25. Knowler WC, Saad MF, Pettitt DJ, Nelson RG, Bennett PH. Determinants of diabetes mellitus in the Pima Indians. *Diabetes care*. 1993; 16(1):216-27.
26. Letelier LM, Manríquez JJ, Rada G. Revisión sistemática y metaanálisis: ¿son la mejor evidencia?. *Rev. méd. Chile*. 2005; 133(2): 246-249.
27. McGuire AL, Colgrove J, Whitney SN, Diaz CM, Bustillos D, Versalovic J. Ethical, legal, and social considerations in conducting the Human Microbiome Project. *Genome Research*. 2008;18(12):1861-64.
28. Fleissner CK, Huebel N, Abd El-Bary MM, Loh G, Klaus S, Blaut M. Absence of intestinal microbiota does not protect mice from diet-induced obesity. *Br J Nutr*. 2010; 104(6):919-29.

29. Rabot S, Membrez M, Bruneau A, Gérard P, Harach T, Moser M, et al. Germ-free C57BL/6J mice are resistant to high-fat-diet-induced insulin resistance and have altered cholesterol metabolism. *FASEB J.* 2010; 24(12):4948-59.
30. Duncan SH, Lobley GE, Holtrop G, Ince J, Johnstone AM, Louis P, et al. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int J Obes (Lond).* 2008; 32(11): 1720-4.
31. Mai V, McCrary QM, Sinha R, Gleib M. Associations between dietary habits and body mass index with gut microbiota composition and fecal water genotoxicity: an observational study in African American and Caucasian American volunteers. *J. Nutr.* 2009; 21;8:49.
32. Armougom F, Henry M, Vialettes B, Raccach D, Raoult D. Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and methanogens in anorexic patients. *PLoS One.* 2009; 4(9):e7125.
33. Furet JP, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes.* 2010; 59(12):3049-57.
34. Tagliabue A, Elli M. The role of gut microbiota in human obesity: Recent findings and future perspectives. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013; 23(3):160-8.
35. Zupancic ML, Cantarel BL, Liu Z, Drabek EF, Ryan KA, Cirimotich S, et al. Analysis of the Gut Microbiota in the Old Order Amish and Its Relation to the Metabolic Syndrome. *Plos One.* 2012; 7(8):e43052-62.
36. Vieira AT, Teixeira MM, Martins FS. The role of probiotics and prebiotics in inducing gut immunity. *Frontiers in immunology.* 2013; 4:445.
37. O'Horo JC, Jindai K, Kunzer B, Safdar N. Treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *Infection.* 2014 Feb;42(1):43-59.
38. Imhoff A, Karpa K. Is there a future for probiotics in preventing *Clostridium difficile*-associated disease and treatment of recurrent episodes? *Nutr Clin Pract.* 2009; 24(1):15-32.
39. Rhode CL, Bartolini N, Jones N. The use of probiotics in the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea with special interest in *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Nutr Clin Pract.* 2009; 24(1):33-40.
40. Sharp RR, Achkar JP, Brinich MA, Farrell RM. Helping Patients Make Informed Choices About Probiotics: A Need For Research *Am J Gastroenterol.* 2009; 104(4):809-13.
41. Cummings JH, Christie S, Cole TJ. A study of fructo oligosaccharides in the prevention of travellers' diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001; 15(8):1139-45.
42. Archer BJ, Johnson SK, Devereux HM, Baxter AL. Effect of fat replacement by inulin or lupin-kernel fibre on sausage patty acceptability, post-meal perceptions of satiety and food intake in men. *Brit J Nutr.* 2004; 91(4):591-9.
43. Benjamin JL, Hedin CR, Koutsoumpas A, Ng SC, McCarthy NE, Hart AL, et al. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of fructo-oligosaccharides in active Crohn's disease. *Gut.* 2011; 60(7):923-9.
44. Macfarlane, G.T., Steed, H. and Macfarlane, S. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *JAM.* 2008; (104): 305-344.
45. Tanaka S, Kobayashi T, Songjinda P, Tateyama A, Tsubouchi M, Kiyohara C, et al. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2009; 56(1): 80-7.
46. Hussey S, Wall R, Gruffman E, O'Sullivan L, Ryan CA, Murphy B, et al. Parenteral antibiotics reduce bifidobacteria colonization and diversity in neonates. *Int J Microbiol.* 2011; (2011):130574.
47. Kruis W. Specific probiotics or 'fecal transplantation'. *Dig Dis.* 2012; (30): 81-4.
48. Brandt LJ, Aroniadis OC, Mellow M, Kanatzar A, Kelly C, Park T, Stollman N, et al. Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol.* 2012; 107(7):1079-87.
49. Aroniadis OC, Brandt LJ. Fecal microbiota transplantation: past, present and future. *Curr Opin Gastroenterol.* 2013; 29(1):79-84.
50. Anathaswamy A. Faecal transplant eases symptoms of Parkinson's. *New Scientist.* 2011; 209 (2796):8-9.

