

ORIGINAL

Abundancia de *Akkermansia muciniphila* según el IMC en pacientes con trastornos gastrointestinales: estudio piloto de cohorte transversal

Akkermansia muciniphila abundance according to BMI in patients with GI disorders: cross-sectional cohort pilot study

Bruno F. Penadés¹ , Sara López Oliva¹ , Ana Terrén Lora¹ , Ismael San Mauro Martín^{1*} 

Afiliación

¹Research Centers in Nutrition and Health (CINUSA Group), Paseo de la Habana 43, 28036, Madrid (Spain).

Autor de correspondencia

Dr. Ismael San Mauro Martín. Research Centers in Nutrition and Health (CINUSA Group), Paseo de la Habana 43, 28036, Madrid (Spain). E-mail: info@grupocinusa.es

Recibido: 04 de septiembre 2023. Aceptado: 28 de septiembre 2023.

Cómo citar este artículo:

Abundancia de *Akkermansia muciniphila* según el IMC en pacientes con trastornos gastrointestinales: estudio piloto de cohorte transversal. Penadés BF, López Oliva S, Terrén Lora A, San Mauro Martín I. 2023; 8 (4): 618-626. DOI: 10.19230/jonnpr.5332

How to cite this article:

Akkermansia muciniphila abundance according to BMI in patients with GI disorders: cross-sectional cohort pilot study. Penadés BF, López Oliva S, Terrén Lora A, San Mauro Martín I. 2023; 8 (4): 618-626. DOI: 10.19230/jonnpr.5332



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License
La revista no cobra tasas por el envío de trabajos, ni tampoco cuotas por la publicación de sus artículos

Resumen

En los últimos años, *Akkermansia muciniphila* ha ganado prominencia en la investigación científica debido a su posible contribución a la regulación de la respuesta inmunológica, la sensibilidad a la insulina, la prevención de enfermedades inflamatorias y la salud metabólica. En concreto, su abundancia se ha correlacionado inversamente con el peso corporal y su presencia podría tener un efecto beneficioso en la regulación del metabolismo. El objetivo del presente estudio fue examinar si *A. muciniphila* estaba asociada con el IMC en personas con trastornos gastrointestinales. Los resultados sugieren que la abundancia de *A. muciniphila* es muy baja en pacientes con trastornos gastrointestinales (1,35%) y menor en personas con sobrepeso u obesidad, aunque los resultados no fueron significativos. Este estudio no pudo confirmar de forma estadísticamente significativa la hipótesis de la relación entre *Akkermansia* y el sobrepeso o la obesidad. Lo cual puede sugerir o una potencia del efecto menor del mismo al esperado, o la no relación directa o causal.

Palabras claves: *Akkermansia muciniphila*; Índice de Masa Corporal; obesidad; microbiota intestinal; ADNr 16S.

Abstract

In recent years, *Akkermansia muciniphila* has gained prominence in scientific research due to its potential contribution to the regulation of immune response, insulin sensitivity, prevention of inflammatory diseases, and metabolic health. Specifically, its abundance has been inversely correlated with body weight, and its presence may have a beneficial effect on metabolism regulation. The aim of this study was to examine whether *A. muciniphila* was associated with BMI in individuals with gastrointestinal disorders. The results suggest that the abundance of *A. muciniphila* is very low in patients with gastrointestinal disorders (1.35%) and lower in individuals with overweight or obesity, although the results were not significant. This study could not confirm in a statistically significant way the hypothesis of the relationship between *Akkermansia* and overweight or obesity. Which may suggest either a lower power of the effect than expected, or no direct or causal relationship.

Keywords: *Akkermansia muciniphila*; Body Mass Index; obesity; gut microbiota; 16S rDNA.

Introducción

La microbiota intestinal ha emergido como un área de investigación de gran relevancia en la salud humana. Esta comunidad bacteriana ejerce influencia en la digestión de nutrientes, la producción de vitaminas y la protección contra agentes patógenos (1). En particular, la bacteria *Akkermansia muciniphila* ha suscitado un interés considerable en la investigación científica debido a su potencial impacto en la salud observado en modelos animales (2). Es una bacteria común del tracto gastrointestinal humano, constituyendo entre el 3-5% de la comunidad microbiana del intestino, y está especializada en la degradación de la mucina (3), una sustancia gelatinosa que recubre el revestimiento intestinal. Comienza su colonización desde la primera infancia y alcanza un nivel estable durante la madurez que se reduce en la senectud (4).

Recientes estudios han comprobado que *A. muciniphila* puede desempeñar un papel en la prevención de enfermedades y la salud metabólica en humanos. Por ejemplo, algunos estudios han observado que *A. muciniphila* se asociaba en el intestino con la modulación de la respuesta inmunitaria, contribuyendo a la homeostasis inmunológica y a la protección contra enfermedades autoinmunitarias (2, 5). La relación entre la diabetes y *A. muciniphila* también ha suscitado interés, ya que se ha observado mayores niveles de esta bacteria en individuos con tolerancia normal a la glucosa que en prediabéticos (6), así como más sensibilidad a la insulina y capacidad de regular los niveles de glucosa en sangre (7, 8). Además, la inflamación crónica es un factor clave en diversas enfermedades, y *A. muciniphila* ha demostrado su capacidad para reducir la inflamación en el intestino y otros tejidos (9, 10). Esta propiedad antiinflamatoria podría tener implicaciones significativas en la prevención y el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas. Sin embargo, uno de los aspectos más intrigantes de la relación entre *A. muciniphila* y la salud se centra en la obesidad, la cual representa una afección crónica y metabólica que supone un grave problema de salud pública, dada la presencia de comorbilidades asociadas con el exceso de peso corporal como las enfermedades cardiovasculares y la diabetes tipo 2 (11). En este sentido, el Índice de Masa Corporal (IMC) es propuesto como una herramienta básica que permite clasificar a las personas adultas según su peso: bajo peso, peso normal, sobrepeso y obesidad (12). Considerando lo anterior, *A. muciniphila* ha surgido como un potencial regulador de la obesidad, puesto que se ha observado que su abundancia se correlaciona inversamente con el IMC en niños de etapa preescolar (13), mujeres adultas (14) o de cualquier sexo (15) y su suplementación fue capaz de reducir la grasa corporal (8). Es más, se han informado de cinco especies candidatas distintas del género *Akkermansia*, pero tan solo *A. muciniphila* se asocia con un IMC más bajo (16).

Todos estos estudios sugieren que *A. muciniphila* podría representar una opción prometedora en el desarrollo de terapias para diversas enfermedades, incluyendo trastornos metabólicos e inflamatorios, gracias a sus propiedades beneficiosas para la salud intestinal (17). Aun así, todavía no hay suficientes evidencias al respecto.

Objetivos

El objetivo del presente estudio fue examinar si *A. muciniphila* estaba asociada con el IMC de personas con trastornos gastrointestinales.

Metodología

Diseño del estudio

Estudio piloto de corte transversal.

Muestra

La muestra estuvo compuesta por 44 participantes españoles entre 25 y 64 años que presentaban al menos dos trastornos en el sistema digestivo. Los requisitos de inclusión se basaron en la edad, que debía estar dentro del rango de 18 a 65 años, y en la presencia de trastornos gastrointestinales, que abarcaban la hinchazón, el dolor abdominal, la flatulencia, la diarrea, los ruidos intestinales, los cambios en la textura de las heces, el estreñimiento, las náuseas, los eructos, el reflujo ácido y el dolor en la parte superior del abdomen. Por otro lado, se establecieron criterios de exclusión que abarcaban a personas con sensibilidad química múltiple, aquellas que seguían dietas específicas y personas que padecían enfermedades crónicas, tales como enfermedad pulmonar obstructiva crónica, cáncer, lupus, VIH, infarto de miocardio, hepatitis, tuberculosis, esclerosis, así como quienes habían sido sometidos a colectomías, enterectomías, o presentaban diagnósticos de colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad celíaca o alergia al trigo.

Análisis molecular

Extracción del ADN

El ADN de las muestras fecales fue extraído siguiendo las indicaciones del fabricante utilizando el Kit PSP Spin Stool DNA Plus de Invitrogen Molecular GmbH en Berlín, Alemania. Luego de la recolección, se aisló todo el ADN, que corresponde a 1,4 ml de heces homogeneizadas con bacterias de difícil lisis, y se depositó en tubos Safe-Lock de 2,0 ml. La muestra homogeneizada fue sometida a una incubación de 10 minutos a 95 °C en un termomixer, con agitación constante a 900 rpm. Posteriormente, se enfriaron las muestras en hielo durante 3 minutos y se sometieron a una segunda incubación de 3 minutos a 95 °C en el bloque térmico. Luego, se añadieron cinco Zirconia Beads II de Invitrogen Molecular GmbH (Berlín, Alemania) a la muestra homogeneizada y se agitaron durante 2 minutos a temperatura ambiente (aproximadamente 20-22 °C). Las muestras se centrifugaron a 12.000 rpm durante 1 minuto para eliminar los inhibidores de la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR), y el sobrenadante se transfirió a un tubo InviAdsorb. Las suspensiones se incubaron durante 1 minuto a temperatura ambiente (aproximadamente 20-22 °C), seguido de una segunda purificación y posterior digestión continua. Para ello, se añadieron 25 µl de proteinasa K y 800 µl del sobrenadante a un tubo receptor de 1,5 ml, se mezclaron utilizando un vortex y se incubaron durante 10 minutos a 70 °C con agitación constante a 900 rpm. La unión del ADN se llevó a cabo al agregar 400 µl de buffer de unión P al lisado y mezclar brevemente con el vortex. Luego, las muestras se transfirieron a una membrana de filtro RTA Spin, se incubaron durante 1 minuto a temperatura ambiente (aproximadamente 20-22 °C) y se centrifugaron durante 2 minutos a 10.000 rpm. Se realizó un lavado para eliminar el etanol y se repitió el proceso de lavado una vez más. Finalmente, se procedió a la elución del ADN colocando el filtro de centrifugación RTA en un nuevo tubo receptor de 1,5 ml y añadiendo entre 100 y 200 µl de buffer de elución D precalentado a 70 °C. La mezcla se incubó durante 3 minutos y se centrifugó durante 1 minuto a 10.000 rpm.

Calidad del ADN

La cantidad de ADN se determinó empleando el análisis con el reactivo Quant-iT PicoGreen dsDNA. Se utilizó el Reactivo Quant-iT PicoGreen™ dsDNA de Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, un colorante fluorescente

altamente sensible para ácidos nucleicos, con el fin de medir la concentración de ADN de doble cadena (ADNs). La intensidad de emisión de fluorescencia se cuantificó a una longitud de onda de 260 nm mediante un espectrofluorómetro VICTOR3. Cabe destacar que el ensayo Quant-iT PicoGreen™ de Invitrogen™, Thermo Fisher, mantuvo su capacidad de medición precisa incluso en presencia de diversos compuestos que suelen contaminar las preparaciones de ácidos nucleicos.

Construcción de la biblioteca de ADN

Se generó la biblioteca de secuenciación a través de la fragmentación al azar de la muestra de ADN o ADNc, seguida por la unión de los cebadores 5' y 3'. La fragmentación y la unión se realizaron simultáneamente en una sola etapa, lo que resultó en una mejora notable en la eficacia del proceso de preparación de la biblioteca. Luego, los fragmentos unidos a los adaptadores se amplificaron utilizando la técnica de PCR y se purificaron mediante electroforesis en gel.

Secuenciación

Para generar los agrupamientos, se introdujo la muestra de la biblioteca en una celda de flujo, donde los fragmentos se adhirieron a una superficie de vidrio que contenía oligonucleótidos que eran complementarios a los adaptadores de la biblioteca. Cada fragmento se multiplicó en diversos grupos clonados utilizando una técnica de amplificación en puente. Una vez completada la formación de los grupos, se procedió a secuenciar las plantillas mediante el uso de la tecnología de secuenciación de alto rendimiento de Illumina MiSeq, con el fin de analizar las comunidades bacterianas presentes en el intestino, tras previamente haber amplificado la región V4 del ADNr 16S mediante PCR.

Análisis bioinformático

Se utilizó el programa informático o suite USEARCH v11.1 (18) para el procesamiento bioinformático de las muestras secuenciadas. Este software analizó las secuencias del amplicón 16S (bacterias) empleando varios algoritmos computacionales heurísticos con el fin de determinar los ZOTUs (Zero-radius Operational Taxonomic Units) presentes en las muestras, la estimación de su abundancia en cada una de ellas y su correspondiente anotación taxonómica previa al inicio del análisis bioinformático.

Se detectaron 2 ZOTUs (19.261 lecturas) cuya asignación taxonómica fue a la especie *A. muciniphila*. No se rarificó en ningún momento los datos metagenómicos, ya que la secuenciación, clusterización y asignación taxonómica fue correcta.

Análisis estadístico

Se presentan las medias y desviaciones estándar o las frecuencias y porcentajes de las características de los participantes, que se dividieron en personas con peso normal ($IMC < 25 \text{ kg/m}^2$) y sobrepeso/obesidad ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$). Con el fin de verificar la homogeneidad de los grupos de estudio y descartar posibles variables de confusión en los resultados, se emplearon dos pruebas diferentes. Se utilizó la prueba t de Student no pareada para las características cuantitativas que cumplieran con el supuesto de normalidad. En los casos en que no se cumplía este supuesto, se aplicó la prueba de Mann-Whitney. Y en cuanto a las características de presencia/ausencia, se analizaron con la prueba exacta de Fisher. Por último, se evaluó la relación entre la abundancia relativa de *A. muciniphila* y el IMC mediante la prueba de correlación de Spearman y para comparar la cantidad de esta bacteria según los grupos, se empleó la prueba de Mann-Whitney. Todas las pruebas fueron llevadas a cabo usando el *software* estadístico R (v4.1.2).

Resultados

Características de la muestra

La muestra estuvo compuesta por 44 pacientes con trastornos gastrointestinales de entre 25 y 64 años ($41,23 \pm 9,11$), y cuyas características principales son presentadas (**Tabla 1**). La mayoría sufrían flatulencias, hinchazón, dolor abdominal, sonidos estomacales, no evacuaban completamente y sentían urgencia para defecar. Los grupos se encontraban claramente diferenciados según el peso e IMC ($p < 0,001$), como era de esperar. No obstante, hubo mayor porcentaje del esperado que tenían sobrepeso u obesidad y urgencia para defecar ($p < 0,05$), así como mayor dolor abdominal ($p = 0,060$), aunque sin resultar significativo en este último caso.

	Total (n=44)	Normal (n=26)	Sobrepeso/obesidad (n=18)	<i>p</i>
Edad, M \pm DE	41,23 \pm 9,11	41,04 \pm 8,75	41,50 \pm 9,87	0,871
Sexo, n (%)				
Mujer	35 (79,5)	23 (88,5)	12 (66,7)	0,128
Hombre	9 (20,5)	3 (11,5)	6 (33,3)	
Peso (kg), M \pm DE	69,08 \pm 15,74	59,79 \pm 1,00	82,51 \pm 12,50	< 0,001
Talla (cm), M \pm DE	1,66 \pm 0,08	1,65 \pm 0,07	1,66 \pm 0,08	0,459
IMC (kg/m ²), M \pm DE	25,10 \pm 5,24	21,81 \pm 2,55	29,85 \pm 4,40	< 0,001
Trastornos gastrointestinales, n (%)				
Flatulencias	40 (90,9)	24 (92,3)	16 (88,9)	1,000
Hinchazón	36 (81,8)	21 (80,8)	15 (83,3)	1,000
Dolor abdominal	35 (79,5)	18 (69,2)	17 (94,4)	0,060
Sonidos estomacales	33 (75)	19 (73,1)	14 (77,8)	1,000
Evacuación incompleta	29 (65,9)	16 (61,5)	13 (72,2)	0,531
Urgencia para defecar	24 (54,5)	10 (38,5)	14 (77,8)	< 0,05
Eructos	22 (50)	13 (50)	9 (50)	1,000
Diarrea	21 (47,7)	10 (38,5)	11 (61,1)	0,220
Ardor	20 (45,5)	12 (46,2)	8 (44,4)	1,000
Dolor epigástrico	20 (45,5)	11 (42,3)	9 (50)	0,760
Estreñimiento	16 (36,4)	12 (46,2)	4 (22,2)	0,125
Nausea	15 (34,1)	11 (42,3)	4 (22,2)	0,208
Regurgitación ácida	13 (29,5)	7 (26,9)	6 (33,3)	0,742

Tabla 1. Características de los participantes

Abundancia de *A. muciniphila*

La abundancia media de *A. muciniphila* fue de 1,35% en los pacientes con trastornos gastrointestinales y hasta el 36,36% de la muestra no tuvo lecturas, es decir, no se detectaron bacterias del género *Akkermansia* en las muestras de heces, mientras que en el resto de participantes hubo cierta variabilidad. La correlación entre *A. muciniphila* y el IMC fue negativa pero no alcanzó la significación estadística (**Fig. 1A**). La abundancia relativa de *A. muciniphila* en los participantes con peso normal fue superior, aunque el resultado no fue significativo (abundancia relativa mediana: 0,06% con peso normal vs 0,002% con sobrepeso/obesidad, $p = 0,101$) (**Fig. 1B**).

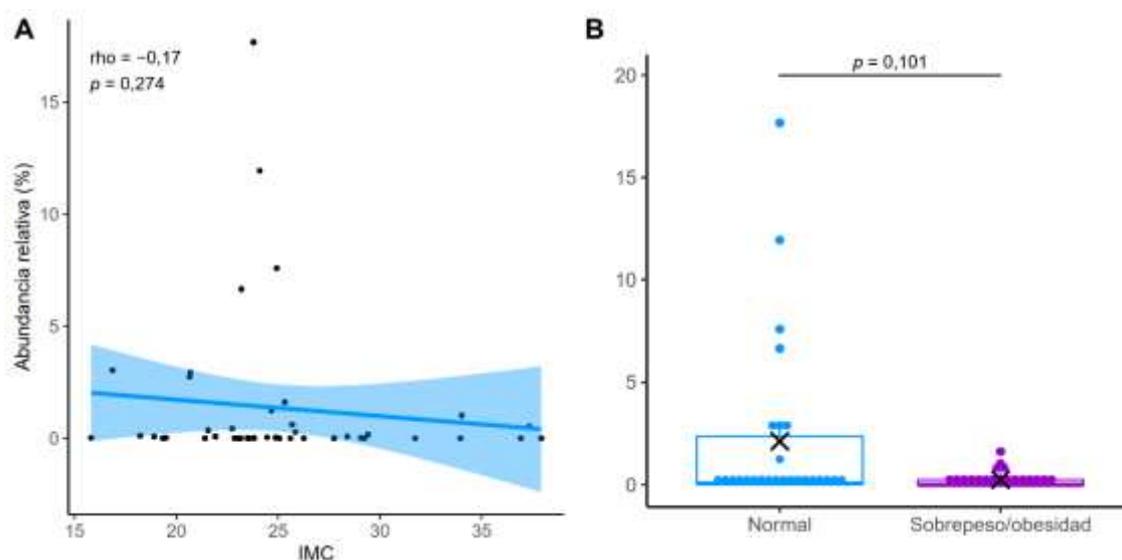


Fig. 1. Asociación entre la abundancia relativa de *A. muciniphila* y el IMC. (A) Correlación de Spearman. (B) Prueba de Mann-Whitney para comparar el IMC categorizado en peso normal (IMC < 25 kg/m²) y sobrepeso/obesidad (IMC ≥ 25 kg/m²). Tamaños muestrales: Peso normal (n = 26) y sobrepeso/obesidad (n = 18). Se muestran las medias marcadas en los boxplots.

Discusión

El objetivo del presente estudio fue evaluar la relación entre la bacteria *A. muciniphila* y el IMC en personas con trastornos gastrointestinales y los resultados obtenidos sugieren una tendencia de que la abundancia de esta bacteria podría ser inferior en personas con sobrepeso u obesidad.

Esta observación, podría reflejar el potencial impacto de *Akkermansia* en la homeostasis metabólica y especialmente en la sensibilidad a la insulina y los lípidos o lipoproteínas, en relación con la composición corporal: peso, IMC, grasa corporal y grasa visceral. Sin embargo, esto no se ha podido comprobar en estudios previos en humanos (7), a pesar de si observar esas diferencias en los biomarcadores homeostáticos. Tal y como se obtuvo en el presente estudio. Los datos previos reportados sugieren el potencial clínico de incrementar la mejora metabólica y resistencia a la insulina, mediante la suplementación (8), o comprender mejor los cambios observados, sin poder excluir la posibilidad de cambios adaptativos de la microbiota con el huésped y ambiente (dieta, ejercicio, hábitos de vida). Ya se había observado menor abundancia en niños con sobrepeso (13) y en mujeres adultas con obesidad severa (14). Sin embargo, en este último estudio, el aumento de *A. muciniphila* en las pacientes tras ser sometidas a la cirugía bariátrica, no necesariamente se

asociaba con una mejora en la salud metabólica. Además, la presencia de esta bacteria en la microbiota intestinal se ha relacionado con un menor riesgo de desarrollar obesidad (15), aunque difiere de los resultados obtenidos en el presente estudio y de autores previos (7). Además, con la hipótesis de modelos preclínicos se han realizado ensayos clínicos en humanos con *A. muciniphila* viva y pasteurizada (8). Por ahora, siendo esta especie la única reportada del género *Akkermansia* (16). En el estudio piloto de prueba de concepto, no se pudo comprobar diferencias significativas entre los grupos, solo tendencias a 12 semanas de intervención, pero donde la relevancia clínica de las diferencias, pre / post tratamiento, no son relevantes (8).

La principal limitación del presente estudio fue que, a diferencia de otras investigaciones, los pacientes presentaban trastornos gastrointestinales y este hecho podría estar detrás del pequeño porcentaje de *A. muciniphila* en el conjunto de la muestra. De hecho, casi el 40% no tuvieron lecturas y el peso corporal no parecía ser la causa. Teniendo en cuenta que el tamaño muestral del estudio no era muy amplio, la pérdida de lecturas pudo mermar las opciones de obtener resultados significativos. Además, se observó que los participantes con sobrepeso u obesidad tenían mayor predisposición a defecar con urgencia y a presentar dolor abdominal. A pesar de ello, se descartó que tuviese algún efecto sobre la abundancia de *A. muciniphila*, sin tener clara su posible relación, ante la falta de evidencia previa, y porque sugiere que podría deberse a los cambios anatómicos del aparato digestivo relacionados con la propia obesidad.

Conclusiones

El presente estudio explora la bacteria *A. muciniphila* en el intestino de pacientes con trastornos gastrointestinales, en el que no se pudo confirmar de forma estadísticamente significativa la hipótesis de la relación entre *Akkermansia* y el sobrepeso o la obesidad. Lo cual puede sugerir o una potencia del efecto menor del mismo al esperado, o la no relación directa o causal. Nuevas investigaciones deberían centrar sus esfuerzos en mejorar la comprensión de los mecanismos subyacentes y cómo influyen en la salud metabólica y el peso corporal, así como incluir mayor número de factores de confusión (como patrones de alimentación y hábitos de vida de los sujetos), para poder establecer un análisis más crítico de la exposición de los resultados.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Financiación

Para este estudio no se obtuvo ninguna fuente de financiación.

Referencias

1. Colella M, Charitos IA, Ballini A, Cafiero C, Topi S, Palmirotta R, et al. Microbiota revolution: How gut microbes regulate our lives. *World J Gastroenterol.* 2023;29(28):4368–83. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v29.i28.4368>.
2. Cani PD, de Vos WM. Next-Generation Beneficial Microbes: The Case of *Akkermansia muciniphila*. *Front Microbiol.* 2017;8:1765. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.01765>.
3. Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004;54(Pt 5):1469–76. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.02873-0>.

4. Collado MC, Derrien M, Isolauri E, de Vos WM, Salminen S. Intestinal integrity and *Akkermansia muciniphila*, a mucin-degrading member of the intestinal microbiota present in infants, adults, and the elderly. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(23):7767–70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01477-07>.
5. Ottman N, Reunanen J, Meijerink M, Pietilä TE, Kainulainen V, Klievink J, et al. Pili-like proteins of *Akkermansia muciniphila* modulate host immune responses and gut barrier function. *PLoS One.* 2017;12(3):e0173004. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0173004>.
6. Zhang X, Shen D, Fang Z, Jie Z, Qiu X, Zhang C, et al. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One.* 2013;8(8):e71108. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0071108>.
7. 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. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308778>.
8. Depommier C, Everard A, Druart C, Plovier H, Van Hul M, Vieira-Silva S, et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat Med.* 2019;25(7):1096–103. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-019-0495-2>.
9. Yang M, Bose S, Lim S, Seo J, Shin J, Lee D, et al. Beneficial effects of newly isolated *Akkermansia muciniphila* strains from the human gut on obesity and metabolic dysregulation. *Microorganisms.* 2020;8(9):1413. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms8091413>.
10. Png CW, Lindén SK, Gilshenan KS, Zoetendal EG, McSweeney CS, Sly LI, et al. Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment in vitro utilization of mucin by other bacteria. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(11):2420–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2010.281>.
11. Martínez Atienzar LI, Jiménez Espinosa A, Tarraga Marcos L, Madrona Marcos F, Tarraga López PJ. Obesidad: una epidemia en la sociedad actual. Análisis de los distintos tipos de tratamiento: motivacional, farmacológico y quirúrgico. *JONNPR.* 2019;4(11):1112-54. DOI: 10.19230/jonnpr.3209.
12. San Mauro Martín I, Garicano Vilar E, Paredes Barato V. Exercise and Body Mass Index: are those two parameters related in adults? *JONNPR.* 2016;1(1):36-41. DOI: 10.19230/jonnpr.2016.1.1.935.
13. Karlsson CLJ, Onnerfält J, Xu J, Molin G, Ahrné S, Thorngren-Jerneck K. The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight. *Obesity (Silver Spring).* 2012;20(11):2257–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2012.110>.
14. Dao MC, Belda E, Prifti E, Everard A, Kayser BD, Bouillot J-L, et al. *Akkermansia muciniphila* abundance is lower in severe obesity, but its increased level after bariatric surgery is not associated with metabolic health improvement. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2019;317(3):E446–59. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00140.2019>.
15. Zhou Q, Zhang Y, Wang X, Yang R, Zhu X, Zhang Y, et al. Gut bacteria *Akkermansia* is associated with reduced risk of obesity: evidence from the American Gut Project. *Nutr Metab (Lond).* 2020;17(1):90. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12986-020-00516-1>.
16. Karcher N, Nigro E, Punčochář M, Blanco-Míguez A, Ciciani M, Manghi P, et al. Genomic diversity and ecology of human-associated *Akkermansia* species in the gut microbiome revealed by extensive metagenomic assembly. *Genome Biol.* 2021;22(1):209. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s13059-021-02427-7>.
17. Si J, Kang H, You HJ, Ko G. Revisiting the role of *Akkermansia muciniphila* as a therapeutic bacterium. *Gut Microbes.* 2022;14(1):2078619. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/19490976.2022.2078619>.
18. Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics.* 2010;26(19):2460–1. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>.