

Сахарный диабет, ожирение и кишечная микробиота

Расширенный реферат статьи Everard A., Cani P.D. Diabetes, obesity and gut microbiota // Best Pract Res Clin Gastroenterol., 2013, Vol. 27, 73–83.

Реферат подготовлен Г.Е. Руновой.

Существует определенная зависимость между составом микрофлоры кишечника и типичными компонентами метаболического синдрома, такими как ожирение, сахарный диабет 2 типа, сердечно-сосудистые заболевания и неалкогольный стеатогепатит. Вероятнее всего, кишечная микробиота вносит свой вклад в развитие медленно прогрессирующего воспаления, лежащего в основе метаболического синдрома, путем нарушения барьерной функции кишечника. Относительно недавно было продемонстрировано, что энтероэндокринные клетки и эндоканнабиноидная система также способны влиять на проницаемость кишечника и метаболическую эндотоксинемию. Кроме того, применение неперевариваемых углеводов в качестве пребиотиков оказалось перспективным в рамках доклинических исследований. Данный обзор посвящен потенциальным механизмам, связывающим кишечную микробиоту с развитием ожирения и сахарного диабета 2 типа. Эти данные подчеркивают перспективность исследований микрофлоры кишечника в качестве мишени для терапевтического воздействия при ожирении и сахарном диабете 2 типа.

Введение

В 1947 г. Jean Vague был первым, кто предположил, что абдоминальное ожирение является неотъемлемой чертой метаболических нарушений при сахарном диабете 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваниях [1]. Много лет спустя международные организации и экспертные группы [2–5] договорились об обозначении наиболее существенных компонентов метаболических расстройств при ожирении термином «метаболический синдром». Несмотря на то что существуют различные критерии метаболического синдрома, обязательными компонентами являются ожирение, нарушения углеводного и липидного обмена, а также наличие факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (артериальная гипертензия и расстройства фибринолиза) [6].

В настоящее время основными мишенями в лечении ожирения являются непосредственно жировая ткань, инсулинорезистентность и состояния, обусловленные инсулинорезистентностью. У пациентов с ожирением проводится поведенческая и медикаментозная терапия. Несмотря на то что снижение массы тела на 5–10 % от исходного веса снижает инсулинорезистентность, только некоторые метаболические на-

рушения восстанавливаются до уровня, характерного для лиц с нормальной чувствительностью к инсулину [7, 8]. Необходимо признать, что на сегодняшний день не существует действительно эффективного препарата для лечения ожирения. Результаты последних исследований, посвященных биохимическим процессам развития ожирения, открыли новые потенциальные мишени в терапии данного заболевания.

Появляется всё больше доказательств, свидетельствующих о том, что увеличение распространенности ожирения и сахарного диабета 2 типа не может быть обусловлено исключительно изменениями в геноме человека, пищевых привычках или снижением физической активности [9]. У подавляющего большинства людей качественный и количественный состав рациона питания значительно варьируется изо дня в день, в то время как объем жировой ткани и масса тела являются достаточно стабильными величинами (несмотря на краткосрочные изменения в энергетическом балансе). Стоит отметить, что при ведении дневника питания и физической активности большинство людей способны компенсировать суммарное потребление энергии соответствующим расходом энергии [10]. Тем не менее

избыток потребления энергии даже менее чем на 1 % может привести к увеличению массы тела и метаболическим осложнениям в долгосрочной перспективе [11]. Следовательно, все механизмы, влияющие на поступление и усвоение энергетических субстратов, должны способствовать балансу массы тела. Тем не менее большинство из молекулярных мишеней, участвующих в этом процессе, неизвестны.

Микрофлора кишечника как новый ключевой орган, участвующий в метаболизме

Кишечная микробиота — фактор окружающей среды, развивающийся с нами от момента рождения и выполняющий ряд биологических функций, таких как защита от патогенов, формирование иммунитета, развитие кишечных микроворсинок и деградация неусваиваемых полисахаридов, также участвует в поддержании энергетического гомеостаза [12, 13]. В нескольких исследованиях было предложено, что микрофлора кишечника играет решающую роль в развитии ожирения и нарушений энергетического обмена. Первое свидетельство в пользу данной гипотезы было получено в исследовании, продемонстрировавшем, что стерильные мыши

(мышцы, лишенные бактериальной флоры) имеют меньший вес по сравнению с мышцами, имевшими кишечную микрофлору с рождения. Важно отметить, что конвенционализация стерильных мышцей кишечной микробиотой приводила к увеличению массы жировой ткани и инсулинорезистентности. Это исследование показало возможную роль микрофлоры кишечника в регуляции запасов жира [14]. Один из предполагаемых механизмов заключается в том, что микрофлора кишечника обладает способностью увеличивать усвоение энергии. Кроме того, способность микрофлоры кишечника модулировать сигнальные пути хозяина может влиять на энергетический баланс и метаболизм хозяина [14–17]. Авторы данного научного обзора [18] и другие исследователи продемонстрировали, что микрофлора кишечника играет важную роль в возникновении инсулинорезистентности и сахарного диабета 2 типа путем активации медленно прогрессирующего воспаления [17–19]. Хотя медленно прогрессирующее воспаление не упоминается среди обязательных компонентов метаболического синдрома, оно является общей чертой, присущей для ожирения и других нарушений обмена веществ.

При таких патологических состояниях, как ожирение и сахарный диабет 2 типа, кишечная микрофлора может контролировать метаболизм хозяина и способствовать развитию медленно прогрессирующего воспаления [18, 20–24]. По мнению Cani P.D. и соавт. (2007), липополисахариды клеточной стенки кишечных бактерий играют ключевую роль в развитии медленно прогрессирующего воспаления и метаболических нарушений [18, 21]. Действительно, липополисахариды клеточной стенки грамотрицательных бактерий являются мощными провоспалительными веществами и непрерывно образуются в кишечнике хозяина по мере гибели грамотрицательных бактерий.

Метаболическая эндотоксинемия
Термин метаболической эндотоксинемии (повышение уровня липополисахаридов плазмы) впервые был сформулирован в серии экспериментов на мышцах [18, 21]. В работе Cani P.D. и соавт. (2007) было показано, что питание с высоким содержанием жира и употребление жирной пищи приводит к увеличению плазменного уровня липополисахаридов (от 2 до 5 раз, что на один-два порядка ниже, чем при эндотоксическом шоке или инфекционных заболеваниях) [18]. Эта концепция была применена к различным моделям генетического ожирения и сахарного диабета 2 типа (*ob/ob* и *db/db*) [22–25]. Следует отметить, что взаимосвязь между употреблением в пищу жиров, ожирением, сахарным диабетом 2 типа и липополисахаридами была впоследствии подтверждена в многочисленных исследованиях на людях [26–35]. Подобно метаболической эндотоксинемии, транслокация «живой» бактерии в ткани хозяина может рассматриваться в качестве признака сахарного диабета и обозначается термином «метаболическая бактериемия». Авторы предположили, что «живые» грамотрицательные бактерии могут быть обнаружены в тканях до дебюта сахарного диабета [36, 37]. В дополнение к исследованиям на грызунах [36], Amar J. и соавт. (2011) в когорте из 3280 лиц показали, что концентрация 16S рДНК была выше у людей с предрасположенностью к диабету. При ожирении различий в концентрации 16S рДНК не наблюдалось. Важно отметить, что все участники (с диабетом и без диабета) имели микрофлору, состоящую преимущественно из бактерий *Proteobacteria* (85–90 %). Таким образом, было предложено, что количество гена 16S рДНК в крови может служить биомаркером риска развития сахарного диабета [37]. Тем не менее данная гипотеза требует дальнейшего подтверждения.

Происхождение метаболической эндотоксинемии: результаты

анализа кишечной микробиоты и кишечного барьера

Учитывая значение эндотоксинемии и медленно прогрессирующего воспаления в возникновении метаболических расстройств, связанных с ожирением, выявление причин и механизмов, лежащих в основе данных состояний, имеет первостепенную важность.

Ожирение и сахарный диабет 2 типа связаны с изменениями микрофлоры кишечника

В настоящее время признается, что ожирение связано с изменениями в составе и разнообразии микрофлоры кишечника (на уровне типа, рода или вида). Первые исследования, продемонстрировавшие эти изменения микрофлоры кишечника, были проведены на мышцах линии *ob/ob*, в ходе которых было показано увеличение числа *Firmicutes* и уменьшение числа *Bacteroidetes*, являющихся двумя доминирующими типами в микрофлоре кишечника [15, 38]. Cani P.D. и соавт. (2007) были первыми, кто показал, что питание с высоким содержанием жиров связано с изменением микрофлоры кишечника у мышцей (уменьшением числа бактерий отдела *Firmicutes* (*Eubacterium rectale* и *Blautia coccoides*), бифидобактерий и отдела *Bacteroidetes*) [18]. С момента появления результатов первых исследований опубликовано большое число работ на подопытных мышцах с ожирением, свидетельствующих об увеличении числа *Firmicutes* и снижении числа *Bacteroidetes*, обусловленном ожирением [16, 25, 39, 40].

Вопрос, увеличивается ли соотношение *Firmicutes/Bacteroidetes* у людей с ожирением, остается предметом дискуссии [41–46]. Кроме того, в исследованиях на людях выявлены изменения в определенном роде и виде бактерий, связанных с ожирением и сахарным диабетом 2 типа. При избыточном весе, ожирении и сахарном диабете 2 типа наблюдается меньшее содержание *Bifidobacterium* по сравне-

нию с лицами, имеющими нормальную массу тела [44, 45]. *Faecalibacterium prausnitzii* является еще одним видом бактерий, число которых уменьшается при сахарном диабете 2 типа [47]. При этом уровень *Bifidobacterium* и *Faecalibacterium prausnitzii* коррелирует с противовоспалительными эффектами [47, 48]. Кроме того, в наблюдательном исследовании было продемонстрировано, что состав микробиоты в детстве может предопределять развитие избыточной массы тела во взрослом состоянии [49]. В фекалиях детей, имевших в последующем избыточный вес, был выделен более высокий уровень золотистого стафилококка и низкий уровень бифидобактерий. Vrieze A. и соавт. (2012) показали, что введение кишечной микрофлоры от человека с нормальным весом временно улучшает чувствительность к инсулину у лиц с метаболическим синдромом [50].

Механизмы, связывающие кишечную микробиоту, метаболическую эндотоксинемию и проницаемость кишечника

Одной из главных задач кишечника является образование симбиоза между кишечной микробиотой и организмом хозяина, предотвращая при этом инвазию в ткани хозяина. Тем не менее нарушение проницаемости кишечного барьера может стать входными воротами для бактерий или продуктов их деградации (например, липополисахаридов, пептидогликанов и флагеллина). Нарушение кишечного барьера может приводить к развитию метаболической эндотоксинемии, характерной для ожирения и сахарного диабета 2 типа. На моделях ожирения у мышей было продемонстрировано, что данная патология связана с увеличением кишечной проницаемости [22, 51–53]. С механистической точки зрения изменение проницаемости кишечника связано с увеличением парацеллюлярной проницаемости. Парацеллюлярная проницаемость регулируется мультибелковыми

комплексами, а именно белками плотных контактов, связывающих эпителиальные клетки (например, клаудин, окклюдин и белок плотных контактов 1 — *zonula occludens 1*) [54]. В ряде работ было показано, что увеличение проницаемости кишечника, наблюдающееся у мышей с ожирением, может быть связано с изменением экспрессии, локализации и распределения двух белков плотных контактов (окклюдина и белка плотных контактов 1) в тонкой кишке [22, 23, 51, 53]. Cani P.D. и соавт. (2008) показали, что изменения микрофлоры кишечника на фоне антибиотикотерапии приводили к увеличению экспрессии мРНК белка плотных контактов 1, уменьшению кишечной проницаемости и метаболической эндотоксинемии у мышей с ожирением, индуцированным питанием с высоким содержанием жира [22]. Эти результаты указывают на причастность микрофлоры кишечника к начальным изменениям кишечного барьера и, таким образом, к метаболической эндотоксинемии при ожирении и сахарном диабете 2 типа.

Считается, что эндоканнабиноидная система принимает участие в регуляции барьерной функции кишечника при ожирении [24]. Эндоканнабиноидная система состоит из эндогенных биоактивных липидов, оказывающих большую часть своих функций путем активации двух рецепторов, связанных с G-белком, а именно каннабиноидных рецепторов 1 (КБ1) и 2 (КБ2). Каннабиноидные рецепторы экспрессированы в том числе в желудочно-кишечном тракте [55]. Наиболее изученными эндоканнабиноидными липидами являются анандамид (N-арахидонилэтаноламид) и 2-арахидонилглицерин. Оба липида являются лигандами каннабиноидных рецепторов 1 и 2, при этом анандамид имеет большее сродство к КБ1 и, предположительно, участвует в регуляции кишечной барьерной функции [24,

55, 56]. Судя по всему, регулирование кишечного барьера при ожирении зависит от КБ1, так как антагонисты КБ1 снижают проницаемость кишечника и метаболическую эндотоксинемию у мышей с ожирением и сахарным диабетом 2 типа [24]. Эндоканнабиноидная система влияет на проницаемость эпителия путем изменения распределения белков плотных контактов [24]. Микрофлора кишечника сама по себе может регулировать каннабиноидные рецепторы 1, что подтверждается снижением экспрессии мРНК этого рецептора в толстом кишечнике мышей на фоне антибактериальной терапии [24]. В общей сложности эти результаты демонстрируют, что микрофлора кишечника может влиять на кишечный барьер и метаболическую эндотоксинемию при ожирении и сахарном диабете 2 типа путем воздействия на эндоканнабиноидную систему.

Кроме кишечника, выполняющего функцию физического барьера, в обеспечении симбиотических отношений между микрофлорой кишечника и хозяина вовлечены другие структуры, например иммунная система. В соответствии с последними данными, существенная роль принадлежит кишечной щелочной фосфатазе (ЩФ), нейтрализующей липополисахариды путем фосфорилирования липидной части этих молекул [57]. Bates J.M. и соавт. (2007) продемонстрировали, что контроль над экспрессией кишечной щелочной фосфатазы осуществляет микрофлора кишечника [58]. Ожирение может быть связано с уменьшением активности кишечной щелочной фосфатазы [52, 59]. Таким образом, модификация активности кишечной ЩФ микрофлорой кишечника или другими веществами на фоне питания с высоким содержанием жира способствует изменению барьерной функции кишечника при ожирении и сахарном диабете 2 типа. Увеличение активнос-

ти кишечной ЩФ связано со снижением метаболической эндотоксинемии [60].

Дисфункция кишечного барьера может привести к увеличению всасывания продуктов деградации бактерий (например, липополисахаридов), что в свою очередь ведет к метаболической эндотоксинемии и медленно прогрессирующему воспалению. Хотя эта зависимость доказана на моделях ожирения у мышей, необходимы дальнейшие исследования, подтверждающие причастность изменений микробиоты и барьерной функции кишечника к метаболической эндотоксинемии у человека.

Роль пребиотиков

Доклинические исследования

В связи с тем что микрофлора кишечника является важным фактором в развитии ожирения и сахарного диабета 2 типа, воздействие на кишечную микробиоту рассматривается в качестве потенциальной мишени в лечении этих заболеваний. Изменение микрофлоры кишечника при использовании пребиотиков (например, фруктана, олигофруктозы, арабиноксилана) улучшает барьерные функции кишечника, снижает метаболическую эндотоксинемии и воспаление при ожирении и сахарном диабете 2 типа [23, 61, 62]. Эти изменения обусловлены трофическим действием на кишечную стенку, улучшением распределения и локализации окклюдина и белка плотных контактов 1 [23]. Среди факторов, участвующих в регуляции кишечной проницаемости и, таким образом, в системных воспалительных реакциях, осуществляемых микробиотой кишечника, энтероэндокринные белки организма хозяина представляют особый интерес. Положительное влияние пребиотиков на состав кишечной микрофлоры и проницаемость кишечника связано с увеличением эндогенной продукции глюкагоноподобного пептида 2 типа (ГПП-2), вовлеченного в регулирование кишечной эпителиальной пролиферации и цело-

стности кишечного барьера. Cani P.D. и соавт. (2010) продемонстрировали, что введение антагонистов ГПП-2 полностью нивелирует основные положительные эффекты пробиотиков на состав кишечной микробиоты (улучшение кишечной барьерной функции, сокращение метаболической эндотоксинемии и воспаления) у мышей с ожирением и сахарным диабетом 2 типа. Таким образом, были получены очередные доказательства того, что положительные изменения в составе микробиоты кишечника влияют на воспалительные изменения при участии ГПП-2 путем нормализации кишечной барьерной функции [23]. Повышение экспрессии проглюкагона (предшественника ГПП-2), связанное с увеличением числа эпителиальных энтероэндокринных L-клеток на фоне изменения состава микробиоты, является одним из механизмов, участвующих в повышении уровня ГПП-2 [54]. Everard A. и соавт. (2009) обнаружили, что терапия пребиотиками приводит к изменениям 102 таксонов бактерий кишечника [53]. Derrien M. и соавт. (2004) показали, что вид *Akkermansia muciniphila*, составляющий от 3 до 5 % микробиоты у здоровых лиц [63, 64] и обратно пропорциональный массе тела, заболеваемости СД 1 типа [70] и заболеваниям кишечника [71] у человека и грызунов, увеличивался примерно в 100 раз на фоне терапии пребиотиками [60, 65–68]. Гипотеза о том, играет ли эта бактерия большую роль в дисфункции кишечного барьера и развитии сахарного диабета 2 типа, требует отдельного подтверждения.

В ряде экспериментальных работ было продемонстрировано, что нормализация микрофлоры кишечника у грызунов с ожирением и сахарным диабетом 2 типа с использованием пребиотиков не только восстанавливает проницаемость кишечника, устраняет эндотоксинемии и воспаление, но и приводит к снижению веса, улучшению показате-

лей углеводного и липидного обмена, а также восстановлению чувствительности к лептину [20, 21, 53, 62, 71]. Не исключено, что эти положительные эффекты могут быть связаны с изменениями в уровне других энтероэндокринных пептидов, участвующих в регуляции гомеостаза глюкозы, аппетита и массы тела. Изменения кишечной микробиоты, вызванные назначением пребиотиков, влияют на продукцию глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), пептида YY, глюкозозависимого инсулиноподобного полипептида и грелина [23, 53, 61, 62, 71, 72]. Примечательно, что ингибирование рецептора ГПП-1 ингибирует положительное влияние пребиотиков на гомеостаз глюкозы при ожирении и сахарном диабете 2 типа, тем самым подтверждая, что ГПП-1 играет ключевую роль в улучшении показателей углеводного обмена при назначении пребиотиков [20].

Исследования с участием людей

Участие кишечных пептидов во взаимодействии между микрофлорой кишечника и хозяина также было продемонстрировано и у людей. Появление ощущения сытости после еды и снижение потребления пищи как следствие расщепления в кишечнике неперевариваемых углеводов впервые продемонстрировано у здоровых лиц [73]. Cani P.D. и соавт. (2006) выявили, что использование пребиотиков у здоровых людей вызывает увеличение насыщения и снижение чувства голода [74]. Предполагается, что эти изменения обусловлены повышением уровня ГПП-1 и пептида YY [75]. Расщепление пребиотиков в кишечнике здоровых людей сопровождается снижением постпрандиальной гликемии [75]. В 2009 г. Parnell J.A. и Reimer R.A. показали, что изменение микрофлоры кишечника (на фоне приема пребиотиков в течение 12 недель) у пациентов с избыточным весом и ожирением влияет на уровень грелина и пептида YY и потенциально может способствовать снижению массы тела и улуч-

шать показатели углеводного обмена [76].

Связующим звеном между кишечной микробиотой и изменениями в уровне энтероэндокринных пептидов могут являться короткоцепочечные жирные кислоты, продуцируемые микрофлорой кишечника. Изменение продукции короткоцепочечных жирных кислот пребиотиками продемонстрировано в исследовании на людях, проведенном Lecerf J.M. и соавт. (2012) [77]. Они обнаружили изменения в уровне ацетата, бутирата, пропионата и общем количестве короткоцепочечных жирных кислот в образцах фекалий здоровых лиц, получавших монотерапию ксило-олигосахаридами или комбинированную терапию инулином в комбинации с ксило-олигосахаридами. На фоне применения смеси инулина и ксило-олигосахаридов наблюдалось снижение уровня липополисахаридов в плазме крови и уменьшение провоспалительного действия липополисахаридов на экспрессию генов цитокинов в крови здоровых лиц [77].

Изменения уровня энтероэндокринных пептидов, участвующих в поддержании гомеостаза глюкозы и регуляции аппетита у человека, происходят на фоне модификации состава микробиоты, тем не менее их влияние на кишечную проницаемость, метаболическую эндотоксинемию и медленно прогрессирующее воспаление при ожирении и сахарном диабете 2 типа требует подтверждения.

Dewulf E.M. и соавт. (2012) провели двойное слепое исследование, где пациенткам с ожирением на три месяца назначались фруктаны инулинового типа. На фоне приема пребиотиков наблюдалось увеличение содержания *Bifidobacterium* и *Faecalibacterium prausnitzii* — микроорганизмов, число которых снижено при СД 2 типа и пропорционально противовоспалительным эффектам [78]. В исследовании Malaguarnera M. и соавт. (2012) выявлено снижение метаболической эндотоксине-

мии у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом, получавших *Bifidobacterium longum* и пребиотик (олигофруктозу) в дополнение к модификации образа жизни [79].

Заключение

Лечение ожирения на настоящий момент заключается в изменении образа жизни (пищевых привычек, уровня физической активности) и терапии сопутствующих заболеваний. Необходимо признать, что в настоящее время действительно эффективные методы лечения ожирения отсутствуют. Существуют неоспоримые доказательства того, что среди потенциальных факторов окружающей среды, провоцирующих развитие ожирения, существенную роль играет кишечная микробиота. Различные исследования демонстрируют связь между составом микрофлоры кишечника и массой тела. Тем не менее метаболическая активность и/или точный состав микробиоты, способствующий дебюту ожирения и СД 2 типа, остается неизвестным. Получены доказательства того, что микрофлора кишечника влияет на метаболизм энтероэндокринных клеток и эндоканнабиноидной системы, являясь связующим звеном между барьерной функцией кишечника, метаболической эндотоксинемией и медленно прогрессирующим воспалением. В ряде работ был продемонстрирован положительный эффект терапии пребиотиками на показатели углеводного, липидного обмена и маркеры воспаления у пациентов с ожирением. Обращает на себя внимание наличие зависимости между улучшением метаболических параметров и изменениями в численности некоторых микроорганизмов (например, *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *F. prausnitzii* и *A. muciniphila*).

Таким образом, пребиотики, такие как неперевариваемые углеводы, меняют состав микробиоты и улучшают метаболические

параметры при ожирении и СД 2 типа (кишечную проницаемость, метаболическую эндотоксинемию и медленно прогрессирующее воспаление). Существует большое количество исследований на грызунах, подтверждающих данную концепцию, тем не менее для экстраполяции полученных результатов на человека требуется проведение дополнительных исследований с большим количеством больных.

Литература

1. Vague J. La diff. rentiation sexuelle, facteur d, terminant des formes de l'ob, sit // Presse Med 1947; 30: 339–40.
2. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation // Diabet Med 1998; 15: 539–53.
3. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR) // Diabet Med 1999; 16: 442–3.
4. Adult Treatment P III. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment panel III) // JAMA 2001; 285: 2486–97.
5. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome—a new worldwide definition // Lancet 2005; 366: 1059–62.
6. Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies // BMC Med 2011; 9: 48.
7. McLaughlin T, Abbasi F, Carantoni M, Schaaf P, Reaven G. Differences in insulin resistance do not predict weight loss in response to hypocaloric diets in healthy obese women // J Clin Endocrinol Metab 1999; 84: 578–81.
8. McLaughlin TL, Reaven GM. Beyond type 2 diabetes: the need for a clinically useful way to identify insulin resistance // Am J Med 2003; 114: 501–2.
9. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes // Nature 2006; 444: 840–6.
10. Edholm OG. Energy balance in man studies carried out by the Division of Human Physiology, National Institute for Medical Research // J Hum Nutr 1977; 31: 413–31.
11. Hill JO. Understanding and addressing the epidemic of obesity: an energy balance perspective // Endocr Rev 2006; 27: 750–61.
12. Delzenne NM, Cani PD. Interaction between obesity and the gut microbiota: relevance in nutrition // Annu Rev Nutr 2011; 31: 15–31.

13. Delzenne NM, Neyrinck AM, Backhed F, Cani PD. Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics // *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 639–46.
14. Backhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage // *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 15718–23.
15. 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.
16. Hildebrandt MA, Hoffmann C, Sherrill-Mix SA, Keilbaugh SA, Hamady M, Chen YY, et al. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity // *Gastroenterology* 2009; 137: 1716–24.
17. Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice // *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 979–84.
18. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance // *Diabetes* 2007; 56: 1761–72.
19. Shen J, Obin MS, Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance // *Mol Aspects Med* 2013; 34: 39–58.
20. Cani PD, Knauf C, Iglesias MA, Drucker DJ, Delzenne NM, Burcelin R. Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide 1 receptor // *Diabetes* 2006; 55: 1484–90.
21. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia // *Diabetologia* 2007; 50: 2374–83.
22. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice // *Diabetes* 2008; 57: 1470–81.
23. Cani PD, Possemiers S, Van de WT, Guiot Y, Everard A, Rottier O, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability // *Gut* 2009; 58: 1091–103.
24. Muccioli GG, Naslain D, Backhed F, Reigstad CS, Lambert DM, Delzenne NM, et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis // *Mol Syst Biol* 2010; 6: 392.
25. Geurts L, Lazarevic V, Derrien M, Everard A, Van Roye M, Knauf C, et al. Altered gut microbiota and endocannabinoid system tone in obese and diabetic leptin-resistant mice: impact on apelin regulation in adipose tissue // *Front Microbiol* 2011; 2: 149.
26. Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation // *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 1286–92.
27. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, Fisher M, da Silva NF, Khanolkar M, et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes // *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: E740–7.
28. Amar J, Burcelin R, Ruidavets JB, Cani PD, Fauvel J, Alessi MC, et al. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men // *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 1219–23.
29. Dixon AN, Valsamakis G, Hanif MW, Field A, Boutsiadis A, Harte A, et al. Effect of the orlistat on serum endotoxin lipopolysaccharide and adipocytokines in South Asian individuals with impaired glucose tolerance // *Int J Clin Pract* 2008; 62: 1124–9.
30. Al-Attas OS, Al-Daghri NM, Al-Rubeaan K, da Silva NF, Sabico SL, Kumar S, et al. Changes in endotoxin levels in T2DM subjects on anti-diabetic therapies // *Cardiovasc Diabetol* 2009; 8: 20.
31. Ghanim H, Abuaysheh S, Sia CL, Korzeniewski K, Chaudhuri A, Fernandez-Real JM, et al. Increase in plasma endotoxin concentrations and the expression of Toll-like receptors and suppressor of cytokine signaling-3 in mononuclear cells after a high-fat, high-carbohydrate meal: implications for insulin resistance // *Diabetes Care* 2009; 32: 2281–7.
32. Deopurkar R, Ghanim H, Friedman J, Abuaysheh S, Sia CL, Mohanty P, et al. Differential effects of cream, glucose, and orange juice on inflammation, endotoxin, and the expression of Toll-like receptor-4 and suppressor of cytokine signaling-3 // *Diabetes Care* 2010; 33: 991–7.
33. Pussinen PJ, Havulinna AS, Lehto M, Sundvall J, Salomaa V. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes. *Diabetes Care* 2011; 34: 392–7.
34. Laugerette F, Vors C, Geloan A, Chauvin MA, Soulaige C, Lambert-Porcheron S, et al. Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation // *J Nutr Biochem* 2011; 22: 53–9.
35. Pendyala S, Walker JM, Holt PR. A high-fat diet is associated with endotoxemia that originates from the gut // *Gastroenterology* 2012; 142: 1100–1. e1102.
36. Amar J, Chabo C, Waget A, Klopp P, Vachoux C, Bermudez-Humaran LG, et al. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment // *EMBO Mol Med* 2011; 3: 559–72.
37. Amar J, Serino M, Lange C, Chabo C, Iacovoni J, Mondot S, et al. Involvement of tissue bacteria in the onset of diabetes in humans: evidence for a concept // *Diabetologia* 2011; 54: 3055–61.
38. Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology // *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 11070–5.
39. Turnbaugh PJ, Backhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome // *Cell Host Microbe* 2008; 3: 213–23.
40. Murphy EF, Cotter PD, Healy S, Marques TM, O'Sullivan O, Fouhy F, et al. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models // *Gut* 2010; 59: 1635–42.
41. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity // *Nature* 2006; 444: 1022–3.
42. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenkov T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins // *Nature* 2009; 457: 480–4.
43. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults // *PLoS One* 2010; 5: e9085.
44. Wu X, Ma C, Han L, Nawaz M, Gao F, Zhang X, et al. Molecular characterisation of the faecal microbiota in patients with type II diabetes // *Curr Microbiol* 2010; 61: 69–78.
45. Schwirtz A, Taras D, Schafer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects // *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18: 190–5.
46. Duncan SH, Belonguer A, Holtrop G, Johnstone AM, Flint HJ, Lobley GE. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces // *Appl Environ Microbiol* 2007; 73: 1073–8.
47. Furet JP, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers // *Diabetes* 2010; 59: 3049–57.
48. O'Mahony D, Murphy S, Boileau T, Park J, O'Brien F, Groeger D, et al. Bifidobacterium animalis AHC7 protects against pathogen-induced NF-kappaB activation in vivo // *BMC Immuno* 2010; 11: 63.
49. Kalliomaki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight // *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 534–8.
50. 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: 913–6. e917.
51. Brun P, Castagliuolo I, Leo VD, Buda A, Pinzani M, Palu G, et al. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G518–25.

52. De La Serre CB, Ellis CL, Lee J, Hartman AL, Rutledge JC, Raybould HE. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G440–8.
53. Everard A, Lazarevic V, Derrien M, Girard M, Muccioli GM, Neyrinck AM, et al. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice // *Diabetes* 2011; 60: 2775–86.
54. Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease // *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 799–809.
55. Alhouayek M, Muccioli GG. The endocannabinoid system in inflammatory bowel diseases: from pathophysiology to therapeutic opportunity // *Trends Mol Med* 2012; 18: 615–25.
56. Alhouayek M, Lambert DM, Delzenne NM, Cani PD, Muccioli GG. Increasing endogenous 2-arachidonoylglycerol levels counteracts colitis and related systemic inflammation // *FASEB J Off Publ Fed Am Societies Exp Biol* 2011; 25: 2711–21.
57. Koyama I, Matsunaga T, Harada T, Hokari S, Komoda T. Alkaline phosphatases reduce toxicity of lipopolysaccharides in vivo and in vitro through dephosphorylation // *Clin Biochem* 2002; 35: 455–61.
58. Bates JM, Akerlund J, Mittge E, Guillemin K. Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota // *Cell Host Microbe* 2007; 2: 371–82.
59. Lalles JP. Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet // *Nutr Rev* 2010; 68: 323–32.
60. Everard A, Geurts L, Van Roye M, Delzenne NM, Cani PD. Tetrahydro iso-alpha acids from hops improve glucose homeostasis and reduce body weight gain and metabolic endotoxemia in high-fat diet-fed mice // *PLoS One* 2012; 7: e33858.
61. Pachikian BD, Essaghir A, Demoulin JB, Catry E, Neyrinck AM, Dewulf EM, et al. Prebiotic approach alleviates hepatic steatosis: Implication of fatty acid oxidative and cholesterol synthesis pathways // *Mol Nutr Food Res* 2013; 57: 347–59.
62. Neyrinck AM, Van Hee VF, Piront N, De Backer F, Toussaint O, Cani PD, et al. Wheat-derived arabinoxylan oligosaccharides with prebiotic effect increase satiogenic gut peptides and reduce metabolic endotoxemia in diet-induced obese mice // *Nutr Diabetes* 2012; 2: e28.
63. 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: 1469–76.
64. Belzer C, de Vos WM. Microbes inside—from diversity to function: the case of *Akkermansia* // *ISME J* 2012; 6: 1449–58.
65. Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women // *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 894–9.
66. Santacruz A, Collado MC, Garcia-Valdes L, Segura MT, Martin-Lagos JA, Anjos T, et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women // *Br J Nutr* 2010; 104: 83–92.
67. Karlsson CL, Onnerfalt J, Xu J, Molin G, Ahrne S, Thorngren-Jerneck K. The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight // *Obesity* 2012; 20: 2257–61.
68. Axling U, Olsson C, Xu J, Fernandez C, Larsson S, Strom K, et al. Green tea powder and *Lactobacillus plantarum* affect gut microbiota, lipid metabolism and inflammation in high-fat fed C57BL/6J mice // *Nutr Metab* 2012; 9: 105.
69. Hansen CH, Krych L, Nielsen DS, Vogensen FK, Hansen LH, Sorensen SJ, et al. Early life treatment with vancomycin propagates *Akkermansia muciniphila* and reduces diabetes incidence in the NOD mouse // *Diabetologia* 2012; 55: 2285–94.
70. Png CW, Linden 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: 2420–8.
71. Cani PD, Neyrinck AM, Maton N, Delzenne NM. Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like Peptide-1 // *Obes Res* 2005; 13: 1000–7.
72. Cani PD, Dewever C, Delzenne NM. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats // *Br J Nutr* 2004; 92: 521–6.
73. 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 // *Br J Nutr* 2004; 91: 591–9.
74. Cani PD, Joly E, Horsmans Y, Delzenne NM. Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study // *Eur J Clin Nutr* 2006; 60: 567–72.
75. Cani PD, Lecourt E, Dewulf EM, Sohet FM, Pachikian BD, Naslain D, et al. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satiogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal // *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 1236–43.
76. Parnell JA, Reimer RA. Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1751–9jects // *Obesity (SilverSpring)* 2010; 18: 190–5.
77. Lecerf JM, Depeint F, Clerc E, Dugenet Y, Niamba CN, Rhazi L, et al. Xylo-oligosaccharide (XOS) in combination with inulin modulates both the intestinal environment and immune status in healthy subjects, while XOS alone only shows prebiotic properties // *Br J Nutr* 2012; 108: 1847–58.
78. Dewulf EM, Cani PD, Claus SP, Fuentes S, Puy-laert PG, Neyrinck AM, et al. Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women // *Gut* 2012. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303304>.
79. Malaguarnera M, Vacante M, Antic T, Giordano M, Chisari G, Acquaviva R, et al. *Bifidobacterium longum* with Fructooligosaccharides in patients with non-alcoholic steatohepatitis // *Dig Dis Sci* 2012; 57: 545–53.