Е.А. Корниенко[1], О.К. Нетребенко[2]

ОЖИРЕНИЕ И КИШЕЧНАЯ МИКРОБИОТА: СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ ВЗАИМОСВЯЗИ

[1]Санкт-Петербургская государственная педиатрическая академия, Санкт-Петербург;
[2]ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздравсоцразвития РФ, Москва

В статье представлен обзор современной зарубежной литературы, обобщающий экспериментальные и клинические данные о взаимосвязи кишечной микробиоты (КМБ) и ожирения. Развитие ожирения сопровождается изменением кишечного биоценоза, что подтверждено результатами молекулярно-генетических исследований. Эксперименты по колонизации животных-гнотобионтов позволили раскрыть некоторые механизмы, в результате которых становится очевидным, что КМБ может способствовать развитию ожирения. Это участие в энергетическом обмене и переваривание полисахаридов, активация ряда ферментов, способствующих липогенезу и отложению жира в адипоцитах, регуляция уровня гастроинтестинальных гормонов и лептина. Ожирение сопровождается

Контактная информация:
Корниенко Елена Александровна – д.м.н., проф., зав. каф. гастроэнтерологии ФПК и ПП ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия» Минздравсоцразвития России
Адрес: 194100 г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2
Тел.: (812) 778-06-61, **E-mail:** elenkornienk@yandex.ru
Статья поступила 20.01.12, принята к печати 25.01.12.

хроническим воспалением слабой степени, которое обусловлено повышенной проницаемостью кишечного барьера и активацией отдельными компонентами микробных клеток и их метаболитами иммунной системы. С этим механизмом связаны инсулинорезистентность и метаболический синдром. Ранние этапы становления КМБ имеют значение в профилактике ожирения, поскольку способствуют формированию иммунологической толерантности, которая прежде всего обусловлена бифидобактериями младенческих штаммов. Понимание этих механизмов дает перспективы для ранней профилактики ожирения.

Ключевые слова: *дети, ожирение, кишечная микробиота, бифидобактерии, экспериментальные исследования.*

Authors present review of current foreign publications, summarizing experimental and clinical data about relationship between intestinal microbiota (IMB) and obesity. Obesity development is accompanied by changes in intestinal biocenosis, which were proved by data of molecular genetic studies. Experiments of animal-gnotobionts contamination permits to discover some mechanisms, which confirm that IMB can assist to obesity development. These mechanisms are: participation in polycaccharides metabolism, activation of some enzymes activating lipogenesis and lipids storage in adipocytes, regulation of gastrointestinal hormones and leptin level. Obesity is accompanied by mild chronic inflammation which is due to increased permeability of intestinal barrier and to immune system activation by some components of intestinal microorganisms and by their metabolites. These mechanisms lead to insulin resistance and to metabolic syndrome development. Early stages of IMB formation play role in obesity prevention, because they assist to immune tolerance forming, which is due to infantile strains of *Bifidobacteriae*. Comprehension of these mechanisms gives prospects of early obesity prevention.

Key words: *children, obesity, intestinal microbiota, Bifidobacteriae, experiments.*

Более 500 млн людей на Земле имеют избыточный вес (индекс массы тела – ИМТ =25–29,9 кг/м^2) и 250 млн страдают ожирением (ИМТ>30 кг/м^2). Эта эпидемия охватывает как развитые, так и развивающиеся страны. Повсеместно отмечается рост распространенности ожирения и связанных с ним заболеваний, включая сахарный диабет 2-го типа, сердечно-сосудистую патологию, гипертоническую болезнь и неалкогольную жировую болезнь печени. Избыточный вес все чаще встречается и у детей, указывая на то, что эпидемия будет нарастать и дальше.

Ожирение развивается в результате нарушения энергетического баланса, то есть, зависит от того, как организм регулирует поступление энергии, ее затраты и запасы. Поскольку голодание эволюционно представляет большую опасность для жизни, чем переедание, наши биологические системы направлены преимущественно против потери веса, а не против его увеличения (т.н. «генотип развития»). Но в результате экономического прогресса пища стала более доступной для человека, огромное разнообразие вкусной и высококалорийной пищи не требует больших физических затрат, проблема голодания сменилась проблемой потребления. За последние 30 лет диета существенно изменилась, став более калорийной, и увеличилась по количеству некоторых видов пищи. Так, ежедневный калораж взрослых американских мужчин и женщин увеличился соответственно на 6,9 и 21,7% [1]. Американцы сейчас едят меньше мяса и больше курицы, увеличилось потребление сладостей на основе кукурузы взамен свекловичного и тростникового сахара. Изменились методы технологической обработки и приготовления продуктов. Повышение поступления энергии на фоне снижения ее потребления – тенденция, свойственная современному обществу – традиционно объясняет нарастание ожирения.

Однако систематические изменения в составе пищевого рациона могут приводить к изменению кишечного микробиома. Так, сравнительное исследование кишечной микробиоты (КМБ) детей Буркина Фасо, ведущих первобытный образ жизни и питающихся богатой пищевыми волокнами пищей, и итальянских детей, получающих традиционную «западную» диету, показало, что ее состав существенно отличается в этих популяциях [2]. У детей Буркина Фасо доминирующим классом бактерий являются *Bacteroidetes*, а у итальянцев – *Fermicutes*. Диета через микрофлору может влиять на структуру человеческого генома. Иллюстрацией этого утверждения было обнаружение микробной β-порфириназы у японцев. *Zobellia galactanivorans* является свойственным морским обитателям членом семейства *Bacteroidetes* и может перерабатывать порфирин из багряных водорослей. Гомологичные *Z. galactanivorans* гены есть у представителя кишечной микрофлоры *Bacteroides plebeius*, который обнаружен только у японцев, но ни у одного из американцев. Вероятно, ген порфириназы из *Z. galactanivorans* или другой родственной бактерии был приобретен через горизонтальный путь передачи представителями резидентной микрофлоры японцев, которые употребляют морскую необработанную нестерильную пищу, а затем этот ген стал передаваться с микроорганизмами кишеч-

ника другим поколениям японцев, распространяясь в японской популяции вертикально [3].

До недавнего времени наши знания относительно состава КМБ базировались на данных бактериологических исследований кала, возможности которых весьма ограничены. С развитием современных молекулярно-генетических методов знания существенно расширились. Секвенирование генов 16S рибосомальной РНК амплифицированных бактериальных нуклеиновых кислот, полученных из фекалий или биоптатов слизистой оболочки кишечника, позволило по-новому идентифицировать и классифицировать представителей КМБ. Спектр обитателей оказался более разнообразным, чем предполагалось, были выявлены ранее неизвестные экосистемы. Установлено, что желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) взрослого человека содержит примерно 10^{12} микроорганизмов в 1 мл содержимого, которые представлены около 1000 видами. В последних работах показано, что это число может быть гораздо больше – по крайней мере 1800 родов и 15 000–36 000 видов бактерий [4]. Обитатели кишечника могут быть подразделены на 3 семейства: 1) эукариоты, содержащие ядерную мембрану, отделяющую геном от клеточного материала; 2) бактерии; 3) археа, которые относятся к прокариотам, лишенным ДНК-содержащего ядра. Доминирующим семейством являются бактерии (табл. 1).

Используя технику клонирования, P.B. Eckburg и соавт. [5] установили, что доминирующими классами в кишечнике человека являются *Bacteroidetes* и *Fermicutes*, они составляют более 90% всех бактерий, а среди археа доминирует *Methanobrevibacter smithii*, потребляющий водород метаноген.

Несмотря на ограниченные данные, касающиеся состава кишечной микрофлоры, доказано, что становление микробиоценоза происходит преимущественно в первый год жизни ребенка, при этом трансформация во взрослый биоценоз зависит от целого ряда генетических и внешних факторов, прежде всего диеты и состояния ЖКТ. В дальнейшем КМБ взрослого человека отличается индивидуальностью и стабильностью [6]. Эта стабильность, вероятно, является следствием развития иммунологической толерантности к приобретенной в раннем возрасте микрофлоре, позволяющей распознавать ее в дальнейшем как свою, в отличие от микробов, проникающих в ЖКТ в более старшем возрасте, когда микробиоценоз в целом уже установился [7].

Таблица 1

Современные представления о составе КМБ

Класс	Род
Bacteriae	*Ruminococcus*
Firmicutes	*Clostridium*
	Peptostreptococcus
	Lactobacillus
	Enterococcus
Bacteroidetes	*Bacteroides*
Proteobacteria	*Desulfovibrio*
	Escherichia
	Helicobacter
Verrucomicrobia	*Bifidobacterium*
Actinobacteria	
Cyanobacteria	
Synergistes	
Archaea	
Euryarchaeota	*Methanobrevibacter*

Нормальная кишечная микрофлора выполняет 3 основные важнейшие функции:

1) метаболическую, переваривая различные пищевые ингредиенты и синтезируя новые, оказывая тем самым влияние на метаболизм макроорганизма в целом;

2) защитную, способствуя укреплению кишечного барьера за счет укрепления межклеточных соединений, увеличения синтеза муцина и усиления процессов регенерации эпителия;

3) иммуногенную, постоянно взаимодействуя с иммунной системой кишечника, регулируя иммунный ответ и способствуя формированию иммунологической толерантности.

Эти функции могут нарушаться в случае нарушения становления биоценоза и изменения его состава.

Метаболическое действие. В 2010 г. был расшифрован каталог генов КМБ 124 европейских жителей [8], он составил более 3,3 млн генов, то есть, общий геном КМБ превосходит геном человека примерно в 150 раз. Учитывая активное участие КМБ в ассимиляции пищи, она может рассматриваться как метаболический «орган». Она активно участвует в расщеплении и продукции важных органических субстанций, которые затем могут влиять на обменные процессы организма-хозяина. Метаболические возможности КМБ подстраиваются к особенностям макроорганизма, дополняя отсутствующие у человека функции. Прежде всего кишечная микрофлора способна расщеплять растительные полисахариды, пищевые волокна, которые не перевариваются ферментными системами человека.

Короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) являются самым ярким примером участия микробиоты в обмене и влияния на иммунитет. КЦЖК не перевариваются в кишечнике, поскольку мы генетически не обладаем необходимым набором ферментов – гликозид-гидролаз и полисахарид-лиаз, необходимых для расщепления различных гликозидных связей, присутствующих в гликанах. Эти отсутствующие ферменты восполняются микрофлорой. КЦЖК являются важным энергетическим ресурсом для организма хозяина, обеспе-

чивая более 10% его энергопотребности. В раннем возрасте, когда основными представителями КМБ являются бифидобактерии (ББ), среди КЦЖК доминирует ацетат, впоследствии, с увеличением доли облигатных анаэробов, возрастает количество бутирата и пропионата. КЦЖК оказывают воздействие и на иммунитет. Бутират усиливает регенерацию и снижает пролиферацию кишечного эпителия, а также модифицирует продукцию цитокинов Th-клетками и укрепляет плотность межклеточных соединений, что в свою очередь препятствует проникновению микрофлоры и предотвращает аберрантный воспалительный ответ. Продукция ацетата оказывает противовоспалительный эффект благодаря воздействию на рецептор GPR43 [9]. Недавние исследования показали роль ацетата в усилении барьерных функций эпителия. КЦЖК могут регулировать ацетилирование лизиновых остатков – ковалентную модификацию белков, вовлеченных в различные сигнальные и метаболические процессы. Обсуждается роль ковалентных и нековалентных связей продуктов микробного происхождения на продукцию белков организмом хозяина, что может оказывать длительный импринтинг-эффект. Показано эпигенетическое воздействие ацетата и бутирата.

В серии экспериментов F. Backhed и соавт. [10] на примере нормальных и генетически модифицированных мышей выявлены способы влияния микробиоты на энергетические процессы и жировой обмен организма хозяина. Сравнивались гнотобионты (ГБ), обычные мыши (О) и гнотобионты, которые в течение 14 дней были колонизированы микрофлорой от обычных мышей (К). Взрослые О-мыши имели значительно большую массу жировой ткани (на 42%) по сравнению с ГБ (по данным двойной энергетической рентгенологической абсорбциометрии). Вес жировых подвесок сальника у О-мышей был на 47% выше. При этом потребление стандартного корма О-мышами было на 29% меньше, чем у ГБ. 14-дневная колонизация гнотобионтов (К), которые имели параметры, аналогичные ГБ, приводила к быстрому нарастанию жировой массы (на 57%) и массы жировых подвесок (на 61%). Параллельно отмечено снижение потребления корма (на 27%).

Исследование показателей активности цикла трикарбоновых кислот в ткани мышц и печени К-мышей показало значительное их повышение, что свидетельствует об активации обменных процессов после колонизации. Несмотря на это, запасы высокоэнергетических фосфатов в тканях не увеличивались. Повышение энергопотребности без нарастания энергозапасов указывает на особый, сжигающий характер метаболизма.

Исследование уровня лептина (гормона, продуцируемого жировой тканью и отражающего содержание жира в адипоцитах) показало, что он увеличивается после колонизации пропорционально нарастанию жировой массы. Этот гормон снижает потребность в пище и повышает энергозатраты. При этом в крови отмечается повышение уровня глюкозы и инсулина, а также нарастает инсулинорезистентность (ИР), определяемая по тестам толерантности к глюкозе и инсулину. Глюкоза и инсулин усиливают процессы липогенеза в печени. Уровень триглициридов (ТГ) в печени у К-мышей увеличивался в 2,3 раза. ПЦР-анализ показал увеличение в печени двух ферментов, способствующих синтезу жирных кислот (ЖК) de novo: ацетил-коэнзим-А-карбоксилазы (ACC1) и синтетазы ЖК (Fas). Два фактора транскрипции (SREBP-1 и ChREBP) регулируют липогенетический ответ гепатоцитов на инсулин и глюкозу и действуют синергически. ПЦР-анализ показал, что у К-мышей отмечается повышение ChREBP-РНК и несколько в меньшей степени – SREBP-1-РНК. С помощью кишечного лаважа было получено прямое доказательство, что микробиота активирует также всасывание моносахаридов.

Таким образом, кишечная микрофлора обеспечивает расщепление растительных полисахаридов, всасывание сахаров в кишечнике и поступление их в печень, а также усиливает процессы липогенеза в печени за счет активации липогенных ферментов (см. рисунок).

Липопротеин-липаза (ЛПЛ) является ключевым регулятором освобождения ЖК из богатых ТГ липопротеинов в мышцах, сердце и жировой ткани. Увеличение активности ЛПЛ усиливает захват ЖК клетками и накопление ТГ в адипоцитах. В белом жире активность ЛПЛ повышается после еды. У К-мышей активность ЛПЛ в эпидидимальной жировой ткани повысилась на 122%, а в сердце – на 99%. Ингибитором ЛПЛ в буром и белом жире является Fiaf (ангиопоэтин-подобный белок, или индуцированный голодом адипоцитарный фактор). Колонизация ГБ-мышей способствует снижению активности Fiaf в кишечнике, но не в печени и белом жире, это снижение происходит в дифференцированных энтероцитах ворсинок и

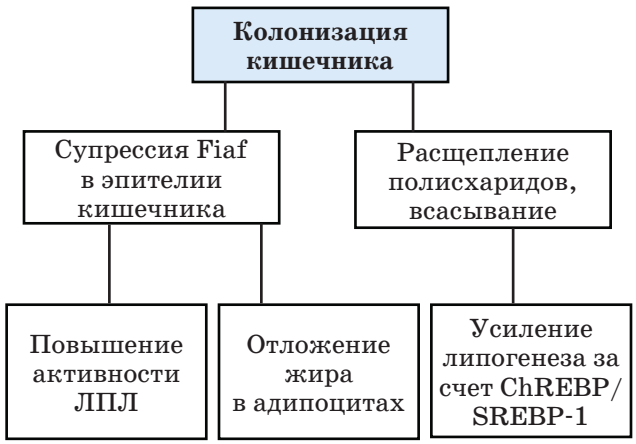

Рисунок. Механизмы ожирения, обусловленные КМБ.

отражает процесс созревания эпителия тонкой кишки под воздействием микрофлоры. Эти данные свидетельствуют о том, что микробиота усиливает опосредованное ЛПЛ включение ТГ в адипоциты за счет подавления ее ингибитора Fiaf.

В другой работе F. Backhed и соавт. [11] на основании исследования мышей-гнотобионтов, получавших западную диету, богатую жирами и углеводами, были определены два механизма, которые усиливают метаболизм ЖК:

1) повышение уровня Fiaf стимулирует продукцию коактиватора PPAR-γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ), который усиливает экспрессию генов, контролирующих окисление ЖК в митохондриях;

2) повышение АМФ-активированной протеинкиназы (АМПК) – фермента, который функционирует как датчик расхода топлива, регулируя энергетический статус клетки. Он активируется при увеличении соотношения АМФ/АТФ в клетке, приводя к уменьшению потребления АТФ за счет подавления энергозатратного анаболического пути и увеличивает АТФ-генерирующий катаболический путь (окисление ЖК) [12]. Повышение активности АМПК (например, при голодании, а также у гнотобионтов) сопровождается усилением окисления ЖК в скелетных мышцах и печени и создает большую зависимость от поступления жиров. Заселение кишечника микрофлорой смещает энергообмен в сторону углеводов, как предпочтительных для бактерий источников энергии.

Эти данные подтверждают, что КМБ может воздействовать на обе стороны энергетического баланса организма: получение энергии из пищи, а также ее потребление и создание запасов энергии.

В экспериментальном исследовании P.J. Turnbaugh и соавт. [13] у генетически предрасположенных к ожирению лептин-дефицитных мышей были обнаружены особенности генотипа микробиоты, в частности, выявлены гены, кодирующие ферменты, расщепляющие непереваримые полисахариды. Авторы также наблюдали увеличение продуктов этой ферментации (ацетата и бутирата) в кишечнике и уменьшение потерь калорий с калом у ожиревших мышей. Пересадка микрофлоры от этих ожиревших мышей к обычным гнотобионтам привела к большей экстракции калорий из пищи, чем у таких же животных, колонизированных микрофлорой от обычных, не ожиревших мышей. Через 2 недели у первых наблюдалась отчетливая тенденция к более быстрой динамике веса и накоплению жировой ткани (47% против 27%). При равном количестве корма различие в поступлении калорий составило 2% калоража. Эти данные еще раз подтвердили участие кишечной микрофлоры в энергетическом обмене и значение микробной составляющей в общем патогенезе ожирения.

Индивидуальные различия энергообмена, наблюдаемые у людей, объясняют факт, что многие пациенты страдают ожирением, несмотря на относительно небольшое потребление пищи. Это, в частности, может быть следствием индивидуального состава кишечного микробиома, определенные характеристики которого могут предрасполагать к ожирению.

Иммуногенное действие КМБ. Хроническое системное воспаление. КМБ посредством различных механизмов, в частности, через систему распознающих эпителиальных рецепторов (Toll-like receptors, TLR) постоянно взаимодействует с иммунной системой кишечника. Известно 11 типов TLR, каждый из которых распознает определенный микробный паттерн. TLR4 распознают липополисахариды (ЛПС), наиболее свойственные аэробным грамотрицательным бактериям, другие TLR активируются микробными липопротеинами, флагеллинами, РНК, ДНК. Метаболические и иммунные процессы также взаимосвязаны. Так, мыши с дефектом TLR4 устойчивы к развитию хронического воспаления и ИР, несмотря на употребление большого количества жиров, что подтверждает важную роль ЛПС и грамотрицательной микрофлоры в генезе метаболического синдрома (МС). Мыши с генетически детерминированным дефектом TLR5 (распознающим флагеллины), напротив, страдают гиперфагией и развивают МС [14]. Это сочетается с изменением характера кишечной микрофлоры, а трансплантация этой флоры от TLR5-дефицитных мышей к обычным гнотобионтам способствует развитию у них ожирения и ИР. Эти данные подтверждают возможность влияния иммунной системы на метаболизм через микробиоту.

Ожирение сопровождается повышением уровня маркеров воспаления в жировой ткани и повышением в крови уровня провоспалительных цитокинов (IL1, IL6, TNFα, IL17, IFNγ). В отличие от ожиревших особей, в жировой ткани тощих мышей обнаруживаются лишь популяции иммуносупрессивных Treg-клеток, которые препятствуют развитию воспаления [15]. Мыши, дефицитные по CC-хемокиновому рецептору 2 (Ccr_2), с ожирением, индуцированным потреблением высококалорийной богатой жирами пищей, не развивают выраженной макрофагальной инфильтрации жировой ткани и при этом имеют лучшую толерантность к глюкозе, чем мыши с ожирением из группы контроля [16]. Блокада TNFα или расходование Treg-клеток, используя анти-CD3 моноклональные антитела, предотвращает развитие ассоциированной с ожирением ИР у мышей с ожирением, индуцированным диетой.

Становится все более очевидным, что хроническое воспаление низкой степени активности является основной причиной развития ИР. P.D. Cani и соавт. [17] выдвинули гипотезу, согласно которой ЛПС грамотрицательных кишечных бактерий действуют как триггеры этого воспа-

ления, способствуя развитию МС на фоне богатой жирами «западной» диеты. В серии экспериментов на мышах, получавших богатую жирами пищу, авторы показали, что:

1) жирная пища усиливает эндотоксемию и определяет, какая микробная популяция будет доминировать в кишечнике, при этом отмечается повышение соотношения грамотрицательных к грамположительным микробам;

2) подкожное введение ЛПС в течение 4 недель повышает уровень инсулина и глюкозы в крови, аналогично таковым при употреблении жирной пищи, то есть, также индуцирует развитие ожирения, ИР и сахарного диабета 2-го типа;

3) уровень ЛПС в крови коррелирует с уровнем инфильтрации жировой ткани макрофагами и инсулинемии.

На фоне метаболической эндотоксемии повышается уровень провоспалительных цитокинов в крови через CD14-зависимый механизм. CD14 обеспечивает связывание ЛПС с поверхностью иммунных клеток и является триггером секреции провоспалительных цитокинов [18]. Устранение CD14 устраняет и проявления МС.

Гнотобионты имеют более низкий уровень провоспалительных цитокинов в крови и низкую инфильтрацию жировой ткани макрофагами, а также лучшую толерантность к глюкозе [19].

Предполагается существование двух механизмов поступления ЛПС из кишечника в кровь: 1) интрацеллюлярно – в составе хиломикрон; 2) парацеллюлярно – через межклеточные промежутки. Оба эти механизма отнюдь не исключают друг друга и могут сосуществовать. Всасывание хиломикрон усиливается при стимуляции ЖК, уровень которых повышен при ожирении и употреблении избыточного количества жиров [20]. При ожирении в сыворотке крови повышен уровень свободных ЖК (СЖК), которые активируют провоспалительный ответ [21]. Однако до недавнего времени было неизвестно, как СЖК активируют внутриклеточный воспалительный сигнал в разных тканях. H. Shi и соавт. [22] обнаружили, что СЖК активируют TLR4 в адипоцитах и макрофагах. То есть, ожирение вызывает повышение СЖК, а они, в свою очередь, активируют TLR4 и индуцируют метаболическое воспаление.

Парацеллюлярный транспорт ЛПС усиливается при хроническом воспалении и нарушении защитного кишечного барьера. Снижение электрического сопротивления кишечного эпителия и уровня белков, обеспечивающих плотность межклеточных соединений (окклюдина и зонулина-1), наблюдается у мышей с генетически детерминированным ожирением [23], это коррелирует с уровнем эндотоксемии. Назначение антибиотиков и пребиотиков приводило к улучшению показателей проницаемости кишечного эпителия, снижению уровня ЛПС, провоспалительных цитокинов в крови и признаков стеатогепатита у экспериментальных животных [24].

Подобные данные получены и в клинических наблюдениях. Больные сахарным диабетом 2-го типа имели более высокий уровень ЛПС, чем здоровые. Лечение пациентов полимиксином B, антибиотиком, специфически подавляющим грамотрицательные микроорганизмы, редуцировало экспрессию ЛПС и проявления стеатогепатита [4].

Используя костномозговые химеры, M. Saberi и соавт. [25] показали, что активация TLR4 необходима для привлечения макрофагов в жировую ткань и развития ИР. Воспаление способствует развитию ИР за счет фосфорилирования инсулинорецептора 1 при активации посредством TNFα протеин-киназы JNK1 и, возможно, IkB-киназы-β (IKK-β), протеин-киназы-C и mTOR. Прерывание в эксперименте сигнального пути с участием JNK1 и NF-kB предотвращает развитие ИР [14]. Но это не исключает возможности существования других сигнальных механизмов. Другие провоспалительные молекулы микробного происхождения, например, пептидогликаны, липопротеины или флагеллины, могут связываться с другими распознающими рецепторами. Так, недавно было продемонстрировано значение петидогликанов кишечной микрофлоры и распознающих их NOD1 рецепторов в активации нейтрофилов, что не исключает их участия в развитии МС. Эти данные подтверждают, что кишечная микрофлора в зависимости от состава может либо способствовать, либо препятствовать воспалительному иммунному ответу, который, в свою очередь, инициирует метаболические дисфункции.

Состав КМБ при ожирении. КМБ стройных и тучных отличается по составу, что было продемонстрировано как в экспериментах на животных, так и в клинических наблюдениях за людьми. Когортное исследование пар близнецов, проведенное в США, показало, что филогенетический состав микрофлоры кишечника и экспрессия микробных генов, вовлеченных в разные метаболические процессы, отличаются у стройных и страдающих ожирением пар [26].

Микробиота слепой кишки мышей с ожирением, изученная с помощью ПЦР по последовательности генов 16S рРНК, отличалась от особей с нормальным весом, несмотря на одинаковое питание. У ожиревших мышей было на 50% снижено количество *Bacteroidetes* при соответственно более высоком количестве *Fermicutes*, при этом количество отдельных представителей данных классов внутри групп животных существенно не отличалось [27].

Серийный мониторинг состояния фекальной микробиоты у 12 пациентов с ожирением на фоне диетической программы, направленной на похудание, был проведен в течение года R.E. Ley и соавт. [6]. Диета предусматривала снижение содержания

либо жиров, либо углеводов. Как и в эксперименте на животных, в начале исследования кишечная микрофлора людей с ожирением, в сравнении с контрольной группой, отличалась снижением *Bacteroidetes* и повышением *Fermicutes*. После снижения веса наблюдалось повышение количества *Bacteroidetes* и снижение *Fermicutes*, причем степень этих изменений микробиоты коррелировала с процентом потери веса, но не с количеством потребляемых с пищей калорий. *Bacteroidetes* составляли 3% кишечной микрофлоры до начала терапии и примерно 15% – после успешного снижения веса. Недостаточно ясно, почему при ожирении наблюдается увеличение *Fermicutes*. Этот класс содержит более 250 родов и имеет разнообразные метаболические свойства. Например, многие входящие в этот класс виды бацилл относятся к факультативным аэробам, а клостридии – к облигатным анаэробам. Такое разнообразие видов внутри класса *Fermicutes* может способствовать более эффективному и полному извлечению энергии из потребляемой человеком пищи.

Хотя *Bacteroidetes* и *Fermicutes* доминируют в кишечном микробиоценозе, там также обитают метаногенные *Archaea*. Обусловленный ими метаногенез повышает эффективность ферментации полисахаридов, утилизируя водород и другие продукты бактериального метаболизма. Образование метана сопряжено с большими электронными и энергетическими потоками, но эта энергия в дальнейшем не может быть утилизирована макроорганизмом. К примеру, для достижения лучших весовых прибавок при выращивании телят стараются подавить метаногенез. В отличие от животных, у которых превалирует утилизирующие ацетат метаногены, например, виды *Methanosarcina*, у человека чаще встречаются водород- и формат-окисляющие виды *Methanobrevibacter*, то есть, ацетат и бутират, продуцируемые бактериями в кишечнике, не потребляются этими метаногенами. Утилизируя водород и формат, *Methanobrevibacter* может содействовать микробному содружеству, продуцировать еще больше ацетата и бутирата, являющихся важным источником энергии и углерода для эпителия толстой кишки. В результате такого бактериально-археального синтропизма поступление энергии в организм человека может даже возрастать.

Для лучшего понимания взаимодействия разных микроорганизмов D.S. Samuel и J.I. Gordon [28] колонизировали мышей-гнотобионтов *Methanobrevibacter smithii, Bacteroides thetaiotaomicron* или обоими. *Bacteroides thetaiotaomicron* – представитель облигатной кишечной микрофлоры, метаболизирующий гликаны и позволяющий расщеплять неперевариемые полисахариды, способствуя поступлению дополнительной энергии. *Methanobrevibacter smithii* – наиболее часто встречающийся у человека представитель класса *Archaea*, составляющий примерно 10% среди всех анаэробов кишечника. Исследование показало, что совместная колонизация гнотобионтов обоими микробами повышает эффективность экстрагирования энергии из употребляемых полисахаридов и отложение жира при этом выше, чем при колонизации каждым из данных микробов в отдельности. Более того, *M. smithii* вляет на метаболизм *B. thetaiotaomicron*, способствуя потреблению им, главным образом, содержащих фруктозу полисахаридов, с последующим расщеплением их на несколько субстанций, включая формат, который и является источником энергии для *M. smithii*. Эти данные подтверждают энергетическое значение симбиоза отдельных представителей кишечного микробиома, а также потенциальную возможность коррекции энергетического баланса, когда один микроб потребляет энергетические субстанции, образующиеся в результате метаболизма другого.

Изучение некоторых свойств бактероидов проливает свет на основы формирования нормальных симбиозов уже в детском возрасте, в частности, с участием младенческих штаммов ББ. Бактероиды составляют примерно 25% всей микробной популяции кишечных бактерий, одним из доминирующих видов среди них является *B. thetaiotaomicron*. Он участвует в развитии капиллярной сети подслизистого слоя, укрепляет защитный слизистый барьер, стимулирует выработку клетками Панета белка Ang4, который секретируется в просвет кишки и оказывает бактерицидное действие [29]. *B. thetaiotaomicron* обладает специальными системами SusC и D, он способен более активно, чем другие виды, расщеплять полисахариды. Он содержит больше гликозилгидролаз, чем другие прокариоты, при этом не содержит адгезины, флагеллины и другие белки, способные активировать воспаление. Определенные свойства *B. thetaiotaomicron* предполагают существование иерархической и содружественной нутриционной сети КМБ. Например, *B. longum* не имеет гомологов SusC, но обладает 8 транспортерами для импорта олигосахаридов (больше, чем в любом другом геноме среди прокариот) и фосфотрансферазной системой – PTS [29]. Она обеспечивает фосфорилирование углеводов для транспорта с получением энергии для этого от фосфоэнолпирувата. Поэтому в кишечнике *B. thetaiotaomicron* может существовать как доминирующий штамм, поскольку способен расщеплять большинство гликозидных связей, подготавливая питательную смесь для других микробов, таких как *B. longum*, которая менее приспособлена к перевариванию полисахаридов, но хорошо усваивает более простые сахара. Это создает симбионтные отношения между этими микробами. *B. thetaiotaomicron* имеет 12 генетических кластеров, усиливающих транскрипцию генов, в основном, направленных на утилизацию

полисахаридов и мукополисахаридов. *B. longum* обладает, в основном, негативной регуляцией: 62 из 83 ее регуляторов транскрипции репрессивны. Поэтому сосуществование *B. thetaiotaomicron* и *B. longum* создает сбалансированную энергетическую систему, которая не способствует излишнему поступлению энергии в организм хозяина, то есть, не способствует развитию ожирения.

В отличие от ББ и бактероидов, протеобактерии (грамотрицательные аэробы) имеют другие метаболические свойства. По размеру генома они могут быть сходны с *B. thetaiotaomicron*, но не имеют SusC/D гомологов и большинство транспортных систем предназначены для транспорта аминокислот, а не сахаров. Поэтому они не могут состоять в симбиозе с бактероидами и ББ.

Как уже указывалось выше, грамотрицательные бактерии способствуют развитию эндотоксемии, стимулируют TLR4 посредством ЛПС, инициируя и поддерживая слабое хроническое воспаление, лежащее в основе МС. В отличие от них, бактероиды и ББ способствуют укреплению кишечного барьера, снижению проницаемости. Ни ББ, ни бактероиды не оказывают провоспалительного действия, не вызывают эндотоксемии.

Обогащенная жирами диета нарушает состав КМБ, в частности, уменьшает количество ББ, снижение жиров и увеличение углеводов способствуют росту ББ. У мышей, которые получали богатую жирами диету вместе с фруктоолигосахаридами (ФОС), восстанавливалась популяция ББ и снижался уровень эндотоксинемии [30]. Это наблюдение указывает, что ББ, укрепляя кишечный барьер и снижая проницаемость, снижают эндотоксемию и уровень провоспалительных цитокинов.

Недавнее исследование A. Schwiertz и соавт. [31] микробиоты 98 людей по данным ПЦР в реальном времени выявило скорее тенденцию к увеличению *Bacteroidetes* у людей с избыточным весом и снижение соотношения *Fermicutes*/*Bacteroidetes* с 3,3 у стройных до 1,2 при ожирении. При этом отмечено снижение метанопродуцентов (*Methanobrevibacter* с 8,0 до 6,2) и ББ (с 8,7 до 8,3). Эти данные указывают на значение не столько отдельных представителей КМБ, сколько симбиозов. Конечным результатом измененных биоценозов при избыточном весе и ожирении становится увеличение извлечения энергии из пищи. Это было также продемонстрировано в данном исследовании. Авторы показали, что общий уровень КЦЖК возрастает с 84,6 ммоль/л в норме до 103,9 ммоль/л при ожирении. При этом меняется соотношение КЦЖК с относительным увеличением доли пропионата (на 41%) и значительно меньшим нарастанием ацетата (18%). Поскольку ацетат является основным продуктом метаболизма ББ, это может отражать качественное изменение микробного содружества с относительным снижением количества ББ.

Сходные результаты были получены в исследовании состава КМБ у беременных женщин с ожирением и избыточными весовыми прибавками в течение беременности, проведенном M.C. Collado и соавт. [32]. ИМТ женщин коррелировал с повышенным количеством клостридий, бактероидов и стафилококков, их количество нарастало к третьему триместру беременности. Большее количество бактероидов отмечено у женщин с избыточными весовыми прибавками в течение беременности. При этом количество ББ у женщин с избыточным весом было ниже, чем у стройных. Поскольку первичная колонизация кишечника новорожденных происходит под влиянием кишечной, вагинальной, кожной флоры матери и грудного молока, которое содержит штаммы бактерий, транслоцированные из кишечника матери, состав материнской КМБ может оказывать влияние на формирование микробиоты ребенка.

Становление и развитие нормальной микрофлоры в раннем возрасте в профилактике ожирения. Первичная колонизация ЖКТ новорожденного происходит при прохождении родовых путей матери. После рождения ребенок подвергается воздействию множества микробов окружающей среды, поэтому в первые дни в кишечнике новорожденных доминируют аэробные протеобактерии. Выше обсуждался провоспалительный потенциал этих микробов, колонизация ими сопровождается развитием слабого воспаления в кишечнике ребенка. Под влиянием грудного вскармливания и содержащихся в молоке микробов, прежде всего ББ младенческих штаммов, уже к 5–10-му дню доминирующими представителями КМБ новорожденного становятся ББ. Они составляют от 60 до 91% микробиоты детей на грудном вскармливании и около 50% – на искусственном [33]. Их уникальные свойства способствуют формированию иммунологической толерантности, снижению активности воспаления, укреплению кишечного защитного барьера. В отличие от детей на грудном вскармливании, КМБ детей на искусственном вскармливании более вариабельна, у них более длительно персистируют энтеробактерии и энтерококки. После введения прикорма состав КМБ постепенно приобретает черты микробиоценоза взрослого типа. Возрастает количество облигатных анаэробов, в частности, бактероидов.

Симбиотные взаимоотношения ББ и бактероидов, которые описаны выше, позволяют взаимовыгодно сосуществовать бактериям основных классов без образования избыточной энергии, и в то же время сохраняя необходимый толерогенный потенциал, свойственный ББ. Это предотвращает развитие и поддержание хронического воспаления и эндотоксемии, играющих важную роль в развитии ИР и МС. Недостаток ББ, сложившийся на самых ранних этапах формирования КМБ, может оказывать влияние на метаболические и

иммунологические процессы, способствуя формированию ожирения.

Становление КМБ новорожденных в западных странах характеризуется в настоящее время целым рядом особенностей [34]:

- медленным становлением ББ;
- длительным персистированием аэробов (протеобактерий);
- немногочисленной и нестабильной микробиотой.

Это нарушает процессы иммунологической адаптации, формирования толерантности, способствует повышенной проницаемости защитного кишечного барьера и поддержанию воспаления слабой степени. Многочисленные исследования подтвердили значение раннего этапа колонизации кишечника для формирования в дальнейшем аллергических и аутоиммунных заболеваний. С учетом роли КМБ и в энергетическом обмене, ожирение также может быть включено в этот ряд «болезней цивилизации».

Данная гипотеза была подтверждена в проспективном исследовании M. Kalliomaki и соавт. [35], в котором с помощью современных молекулярно-генетических методов FISH и поточной цитометрии была показана связь снижения младенческих штаммов ББ у детей на первом году жизни и развития ожирения в дальнейшем. У 159 детей в возрасте 6 и 12 мес была исследована КМБ, а в возрасте 7 лет из этой когорты выбраны 25 детей с ожирением. Данные исследования их КМБ, проведенные в возрасте 6 и 12 мес, сопоставлены с аналогичными данными других детей когорты. Оказалось, что в возрасте 6 и 12 мес у детей, развивших в дальнейшем ожирение, был существенно снижен уровень младенческих штаммов ББ: *B. longum* и *B. breve*.

В исследовании M.C. Collado и соавт. [36] показано влияние ИМТ матери перед беременностью и ее весовых прибавок во время беременности на становление микробиоты ребенка в течение первых 6 мес жизни. Была выявлена прямая корреляция между ИМТ матери и количеством бактероидов, клостридий и стафилококков у ребенка. Ожирение матери и избыточные весовые прибавки во время беременности сочетались с низким уровнем ББ у ребенка. При количественной оценке ПЦР была выявлена корреляция между ИМТ и микробным числом ББ: у детей от матерей с избыточным весом оно составило 9,51 (9,34–10,38), с нормальным – 10,3 (9,85–10,6). Количество *S. aureus* было большим при избыточном весе: 7,95 (7,24–8,08) против 6,52 (6,27–7,02). У детей, рожденных от женщин с ожирением, чаще выявлялась *Akkermansia muciniphila* (56,2% против 23%) и *C. difficile*, как в возрасте 1 мес (31,2% против 3,8%), так и в 6 мес (81,2% против 23,1%).

Больший вес ребенка в течение первых месяцев жизни был связан с более высокой концентрацией *Cl. coccoides*, при нормальном весе было выше количество ББ и их соотношение с клостридиями. Таким образом, более высокое количество ББ, особенно младенческих штаммов, наблюдается у детей от матерей с нормальным весом, нормальной весовой прибавкой в течение беременности и у детей с меньшими весовыми прибавками к 6 мес жизни. Обратная тенденция прослеживается для клостридий: их количество повышено при избыточном весе, избыточных прибавках веса во время беременности и у детей с большими весовыми прибавками к 6 мес жизни. Данное исследование показало высокое содержание *A. muciniphila* у детей от матерей с ожирением, этот микроб способен переваривать слизь и повышать проницаемость слизистого кишечного барьера. *C. difficile* превалировал у детей от матерей с ожирением, этот микроб способен вызывать воспалительную реакцию в кишечнике, обладает рядом токсинов и выявляется не только при аллергии и ожирении, но и целом ряде кишечных заболеваний. Как для «аллергиков», так и для детей с ожирением характерно повышение *S. aureus*. Это еще раз подчеркивает возможную связь микробиоты, нарушения кишечного барьера, воспаления и ожирения.

Высокий уровень ББ младенческих штаммов уменьшает процессы воспаления в кишечнике. Важно учитывать и состав ББ: взрослые штаммы (*B. longum subsp. longum, B. adolescentis, B. pseudocatenulatum*) оказывают провоспалительное действие, способствуют Th2-иммунному ответу, свойственному аллергии, в то время как младенческие (*B. longum subsp. infantis, B. animalis subsp. lactis*) могут сбалансировать иммунный статус, обладая иммунорегулирующим, толерогенным эффектом [35]. При ожирении наблюдается превалирование взрослых штаммов и снижение младенческих, а соотношение ББ к клостридиям снижается. Это снижение становится особенно очевидным к 6-месячному возрасту. Подобная тенденция относительного снижения ББ может указывать на повышение риска развития ожирения в дальнейшем, а также риска аллергических заболеваний. Понимание этих механизмов в становлении КМБ и важной роли ББ младенческих штаммов в формировании метаболических и иммунных функций открывает перспективы для возможной ранней профилактики ожирения и МС. Модификация КМБ может стать новым терапевтическим подходом в лечении ожирения, не обладающим никакими побочными эффектами.

Модификация КМБ в профилактике и лечении ожирения. Ожирение сопровождается не просто отложением жира, но и слабо выраженным хроническим воспалением и ИР. Эта триада, возможно, может быть откорректирована через воздействие на КМБ. Как известно, существует два основных способа коррекции КМБ: применение про- и пребиотиков.

Таблица 2

Включение ББ в рацион животного с ожирением улучшает биохимические показатели и снижает количество жира*

Показатели	Контроль	БФ-1	БФ-2
Холестерин, мг%	152	140	127**
Триглицериды, мг%	73,9	69,1	79,4
Глюкоза, мг%	210	187,7**	180,4**
Инсулин, ед/мл	62,9	31,6**	26,6**
HOMA-IR	32,1	14,9**	11,9**

*По данным [45], **$p<0,01$ при сравнении с контролем.

В двух недавних исследованиях изучалась эффективность **пребиотиков** – ФОС. Экспериментальные крысы питались обычной или богатой жирами пищей [37], добавление ФОС редуцировало потребление энергии и аппетит, уменьшало весовые прибавки и массу жировой ткани. При этом наблюдалось изменение уровня эндогенных кишечных пептидов, регулирующих аппетит и метаболизм. Эти данные несколько противоречат ранее обсуждаемым, согласно которым неперевариемые полисахариды могут служить источником дополнительной энергии, извлекаемой в процессе их микробной ферментации. Возможно, эти противоречия объясняются тем, что пребиотики способствуют не просто общему микробному росту, а селективной модуляции КМБ, увеличению определенных видов бактерий, в частности, ББ. В исследовании P.D. Cani и соавт. [30] продемонстрировано снижение эндотоксемии у мышей, получавших ФОС, причем степень снижения имела обратную корреляцию с нарастающим уровнем ББ в кишечнике этих животных. Количество ББ коррелировало также с улучшением толерантности к глюкозе, индуцированной глюкозой секрецией инсулина и общим уровнем воспалительной активности. Применение пребиотиков у ApoE–/– мышей в течение 16 недель приводило к изменению состава кишечного микробиоценоза и уменьшению размеров атеросклеротических бляшек на 35% [38].

Пробиотики могут также быть перспективными в лечении больных, страдающих ожирением. Однако не все имеющиеся в настоящее время пробиотические штаммы могут применяться с равной эффективностью. В исследовании H.Y. Lee и соавт. [39] не было получено убедительных доказательств эффективности *Lactobacillus rhamnosus* PL60, которая отличается способностью синтезировать конъюгированную линолевую кислоту. Экспериментальные животные несколько снизили темп весовых прибавок, но изменений энергетического баланса и уменьшения размеров адипоцитов в жировой ткани отмечено не было. L. Portugal и соавт. [40] не получили уменьшения размеров атеросклеротических бляшек после назначения экспериментальным ApoE–/– мышам *Lactobacillus delbruecki*. Однако систематическое употребление йогурта, содержащего *L. gasseri*, в течение 12 недель способствовало снижению веса у пациентов с ожирением [41]. Перинатальное назначение беременным и кормящим матерям *L. rhamnosus* GG препятствовало избыточным весовым прибавкам в первые 3 года жизни ребенка, но не имело значения в дальнейшем [42]. J.L. Sonnenburg и соавт. [43] колонизировали гнотобионтов *B. thetaiotaomicron* и *Bifidobacterium longum*. Когда *B. thetaiotaomicron* сочетался с *B. longum*, ряд полисахаридов, намеченных к деградации, утрачивался, что в конечном итоге снижало поступление энергии, причем это не зависело от генотипа хозяина. F.P.J. Martin и соавт. [44] провели исследование на гнотобионтах, колонизированных человеческой младенческой микрофлорой с дополнительным назначением пробиотиков, и показали, что пробиотики оказывают воздействие на организм хозяина, а изменения микробиома при этом сопровождаются метаболическими изменениями во многих тканях, влияя на энергетический, жировой и аминокислотный обмен. Некоторые экспериментальные попытки использовать пробиотики для коррекции алиментарного ожирения показали благоприятные результаты. Селективное увеличение количества ББ в кишечнике у экспериментальных животных с ожирением и сахарным диабетом уменьшает уровень эндотоксемии, улучшает толерантность к глюкозе, снижает содержание провоспалительных цитокинов в крови [17]. Включение пробиотиков в дозе 10^8 (БФ-1) и 10^9 (БФ-2) в рацион животных с ожирением с высокой степенью достоверности снижало уровень ТГ, глюкозы, инсулина в плазме крови и уменьшало ИР (табл. 2) [45].

Таким образом, применение про- и пребиотиков в профилактике и лечении ожирения продемонстрировало не всегда убедительные, но все же обнадеживающие результаты. Важность формирования симбиозов с участием ББ была подтверждена рядом исследований. При этом необходимо учитывать характер штамма ББ, поскольку только младенческим штаммам, в отличие от взрослых, свойственны толерогенные и противовос-

палительные свойства. Учитывая это и понимая важность ранних этапов становления КМБ, следует подчеркнуть важность простых мер ранней профилактики ожирения, как и других «болезней цивилизации»:

- естественные роды;
- раннее прикладывание к груди;
- исключительно грудное вскармливание в течение первых 4–6 мес жизни;
- при отсутствии молока у матери – применение современных адаптированных смесей, содержащих младенческие штаммы ББ (*B. lactis*).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Wright JD, Kennedy-Stephenson J, Wang CY*. Trends in intake of energy and macronutrients – United States, 1971–2000. Morb. Mortal. Wkly Rep. 2004; 53: 80–82.

2. *De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, et al.* Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa – PNAS, Erly Edition, 2010, on line.

3. *Hehemann JH*. Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota. Nature. 2010; 464: 908–912.

4. *Di Baise JK, Zhang H, Crowell MD, et al.* Gut microbiota and its relationship with obesity. Mayo Clin. Proc. 2008; 83 (4): 460–469.

5. *Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al.* Diversity of the human intestinal microbial flora. Science. 2005; 10, 308 (5728): 1635–1638.

6. *Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI*. Microbial ecology human gut microbes associated with obesity. Nature. 2006; 444 (7122): 1022–1023.

7. *Sharma R, Young C, Neu J*. Molecular modulation of intestinal epithelial barrier: contribution of microbiota. J. Biomed. Biotech. 2010; 10.1155/305879, on line.

8. *Qin J, Li R, Raes J, et al.* A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature. 2010; 464 (4): 59–67.

9. *Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, et al.* Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. Nature. 2011; 474: 327–336.

10. *Backhed F, Ding H, Wang T, et al.* The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. PNAS. 2004; 101 (44), on line.

11. *Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI*. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. Proc. Nat. Acad. Sci USA. 2007; 104 (30): 979–984.

12. *Kahn BB, Alquier T, Carling D, et al.* AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. Cell Metab. 2005; 1: 15–25.

13. *Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, et al.* An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature. 2006; 444 (7122): 1111–1119.

14. *Caesar R, Fak F, Backhed F*. Effects of gut microbiota on obesity and atherosclerosis via modulation of inflammation and lipid metabolism. J. Intern. Med. 2010; 268: 320–328.

15. *Feuerer M*. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect methabolic parameters. Nature Med. 2009; 15: 930–939.

16. *Gregor MF, Hotamisligil GS*. Inflammatory mechanisms in obesity. Annu. Rev. Immunol. 2011; 29: 415–445.

17. *Cani PD, Amar J, Iglesias MA, et al.* Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. Diabetes. 2007; 56 (7): 1761–1772.

18. *Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, et al.* CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. Science. 1990; 249: 1431–1433.

19. *Reigstad CS, Lunden GO, Felin J, Backhed F*. Regulation of serum amyloid A3 (SAA3) in mouse colonic epithelium and adipose tissue by the intestinal microbiota. PloS ONE. 2009; 4: 5842.

20. *Ghoshal S, Witta J, Zhong J, et al.* Chilomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. J. Lipid Res. 2009; 50: 90–97.

21. *Reinhardt C Reigstad CS, Backhed F*. Intestinal microbiota during infancy and its implications for obesity. J. Ped. Gastroenterol. Nutrition. 2009;48: 249–256.

22. *Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, et al.* TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. J. Clin. Invest. 2006; 116: 3015–3025.

23. *Brun P, Castagliolo I, Leo VD, et al*. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2007; 292: G518–525.

24. *Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, 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: 1091–1103.

25. *Saberi M, Woods NB, de Luca C, et al.* Hematopoetic cell-specific deletion of toll-like receptor 4 ameliorates hepatic and adipose tissue insulin resistance in high-fat-fed mice. Cell Metab. 2009; 10: 419–429.

26. *Muegge B.* Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans. Science. 2011; 332: 970–974.

27. *Ley RE, Backhed F, Turnbaugh PJ, et al.* Obesity alters gut microbial ecology. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2005; 102 (31): 11070–11075.

28. *Samuel BS, Gordon JI*. A humanized gnotobiotic mouse model of host-archaeal-bacterial mutualism. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2006; 103 (26): 10011–10016.

29. *Xu J, Gordon JI*. Honor thy symbionts. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2003; 100 (18): 10452–10459.

30. *Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, 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: 2374–2383.

31. *Schwiertz A, Taras D, Schafer K, et al.* Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. Obesity. 2010; 18 (1): 190–195.

32. *Collado MC, Isolauri E, Laitinen K*. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. Am. J. Clin. Nutr. 2008; 88: 894–899.

33. *Donovan SM*. Promoting bifidobactera in the human infant intestine: why, how and which? J. Ped. Gasroenterol. Nutr. 2011; 52 (6): 648–650.

34. *Alderberth I*. Factors influencing the establishment of the intestinal microbiota in infancy. Eds. Bier D.M., German J.B., Lonnerdal B. Personalized Nutrition for the diverse needs of infants and children. Nestle Nutr.Workshop, 2008; 62: 13–33.

35. *Kalliomaki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E*. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. Am. J. Clin. Nutr. 2008; 88: 534–538.

36. *Collado MC*. Effect of mother's weight on infant's microbiota acquisition, composition, and activity during pregnancy: a prospective follow-up study initiated in early pregnancy. Am. J. Clin. Nutr. 2010; 92: 1023–1030.

37. *Cani PD, Neyrinck AM, Malon N, Delzenne NM*. Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like peptide 1. Obes. Res. 2005; 13 (6): 1000–1007.

38. *Rault-Nania M, Gueux E, Demougeot C, et al.* Inulin attenuates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. Br. J. Nutr. 2006; 96: 840–844.

39. *Lee HY, Park JH, Seok SH, et al.* Human originated bacteria Lactobacillus rhamnosus PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. Biochim. Biophys. Acta. 2006; 1761 (7): 736–744.

40. *Portugal L, Goncalves J, Fernandes L, et al.* Effect of Lactobacillus delbrueckii on cholesterol metabolism in germ-free

mice and on atherogenesis in apolipoprotein E knock-out mice. Braz. J. Med. Biol. Res. 2006; 39: 629–635.

41. *Kadooka Y, Sato M, Imaizumi K, et al.* Regulation of abdominal adiposity by probiotics (Lactobacillus gasseri SBT2055) in adults with obesetendencies in randomized controlled trial. Eur. J. Clin. Nutr. 2010; 64: 636–643.

42. *Luoto R, Kalliomaki M, Laitinen K, Isolauri E.* The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years. Int. J. Obes. 2010; 16: on line.

43. *Sonnenburg JL, Chen CT, Gordon JI.* Genomic and metabolic studies of the impact of probiotics on a model gut sympiont and host. PloS Biol. 2006; 4 (12): e413.doi:10.1371, on line.

44. *Martin FPJ, Wang Y, Srenger N, et al.* Probiotic modulation of symbiotic gut microbial-host metabolic interaction in a humanized microbiome mouse model. Mol. Syst. Biol. 2008; 4: 157.

45. *Kondo S, Xiao J, Saton T, et al.* Antiobesity effects of Bifidobacterium breve Strain B-3 supplementation in a mouse model with high-fat diet-induced obesity. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2010; 74: 1656–1661.