



VIA MEDICA

www.gastroenterologia.viamedica.pl

Lucyna Ostrowska

Zakład Dietetyki i Żywnienia Klinicznego, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Wpływ mikrobioty jelitowej na zaburzenia metaboliczne i otyłość — punkt widzenia internisty i dietetyka

The influence of intestinal microbiota on metabolic disorders and obesity; internist's and dietitian's view

STRESZCZENIE

Otyłość staje się jednym z najpoważniejszych problemów zdrowotnych większości społeczeństw na świecie. Nadal poszukuje się przyczyn takiego stanu, a zwłaszcza modyfikowalnych czynników wpływających na równowagę energetyczną organizmu. W ostatnim czasie coraz więcej przeprowadzonych badań umożliwia lepsze zrozumienie funkcji mikrobioty jelitowej oraz jej wpływu na metabolizm i magazynowanie energii w organizmie gospodarza. W niniejszej pracy przedstawiono aktualną wiedzę na temat roli mikrobioty jelitowej w patogenezie otyłości, insulinooporności, cukrzycy typu 2, zaburzeń lipidowych i niealkoholowej stłuszczeniowej

choroby wątroby. Mikrobiota zdecydowanie różni się u osób otyłych i szczupłych; u osób otyłych charakteryzuje się głównie spadkiem różnorodności, zmniejszeniem liczby bakterii komensalnych o właściwościach przeciwzapalnych i wzrostem liczby drobnoustrojów patogennych. Generuje to ekspresję odmiennych szlaków metabolicznych, co może stanowić jeden z czynników etiologicznych otyłości i chorób jej towarzyszących. Pro- i prebiotykoterapia jest aktualnie wykorzystywana w celach rekompozycji ekosystemu jelitowego.

Gastroenterologia Kliniczna 2016, tom 8, nr 2, 62–73

Słowa kluczowe: otyłość, mikrobiota, zaburzenia metaboliczne, probiotyki, prebiotyki

ABSTRACT

Obesity becomes one of the most serious health problem of most societies in the world. Factors that may modify human energy balance are being intensively evaluated and there is an increasing number of studies that help us to better understand the relationship between gut microbiota and human body metabolism and energy storage. This review presents the newest evidence on the role of intestinal microbiota in the pathogenesis of obesity, insulin resistance, diabetes mellitus type 2, and non-alcoholic fatty liver disease. Intestinal microbiota differs substantially

in normoweight and obese individualas; in the latter it is characterised by low species variety, decreased load of commensal bacteria with antiinflammatory activity and increased load of pathogenic microorganisms. These alterations may promote abnormal metabolic pathways and lead to obesity and obesity related disorders. Pro- and prebiotic therapy is used for recomposition of the intestinal ecosystem.

Gastroenterologia Kliniczna 2016, tom 8, nr 2, 62–73

Key words: obesity, microbiota, metabolic disorders, probiotics, prebiotics

WSTĘP

Otyłość jest chorobą przewlekłą bez tendencji do samoistnego ustępowania. Jej występowanie narasta zarówno w krajach wysoko uprzemysłowionych, jak i rozwijających się. Wyróżnia się otyłość gynoidalną, wisceralną (centralną, trzewną) oraz otyłość metaboliczną osób szczupłych, czyli zespół MONW (*metabolically obese but normal weight*). Otyłości

trzewnej towarzyszą insulinooporność i jej konsekwencje — cukrzyca typu 2, nadciśnienie tętnicze, zaburzenia lipidowe oraz niektóre nowotwory (u kobiet rak piersi i macicy, u mężczyzn rak prostaty, u obu płci — rak jelita grubego) [1]. Poza tym u osób otyłych częściej występują: kamica żółciowa, dna moczanowa, powikłania miażdżycy, choroba zwyrodnieniowa stawów, depresja [2]. Mimo coraz większej wiedzy na temat otyłości i jej

Adres do korespondencji:

dr hab. n. med. Lucyna Ostrowska
Zakład Dietetyki
i Żywnienia Klinicznego UM
Mieszka I 4B, 15–054 Białystok
tel.: 85 732 82 44
faks: 85 732 82 44
e-mail: lucyna@umb.edu.pl

powikłań, trwają badania nad poszukiwaniem czynników ryzyka i przyczyn tej choroby. Wśród najczęściej wymienianych są czynniki genetyczne i środowiskowe prowadzące do gromadzenia nadmiaru energii przyswojonej z pożywienia w postaci zapasowej tkanki tłuszczowej. Wśród innych przyczyn wymienia się czynniki endokrynologiczne, metaboliczne, psychologiczne oraz niektóre leki (przeciwcukrzycowe — w tym sulfonyloamidy i insulina, kardiologiczne — głównie beta-adrenolityki starszej generacji oraz leki przeciwpstrychotyczne i przeciwdepresyjne). Wciąż nie jest znana przyczyna, dla której jedni magazynują dużo tkanki tłuszczowej podskórnej, a znacznie mniej tkanki tłuszczowej trzewnej (typ FOTI, *fat outside, thin inside*), a inni odwrotnie — mają mały depozyt tkanki tłuszczowej podskórnej, a dużo tkanki wisceralnej (typ TOFI, *thin outside, fat inside*).

Ostatnio coraz więcej badań dotyczy oceny wpływu mikroflory jelitowej (mikrobioty) na równowagę metaboliczną organizmu człowieka. Może on wynikać z wpływu mikrobioty na takie czynniki, jak: preferencje smakowe, apetyt, wykorzystanie energii z pożywienia, motoryka przewodu pokarmowego, metabolizm glukozy i lipidów oraz procesy tłuszczzenia wątroby [3]. W niniejszym opracowaniu przedstawiono rolę mikrobioty jelitowej w rozwoju zaburzeń metabolicznych, tj. otyłości, insulinooporności, cukrzycy typu 2, zaburzeń gospodarki lipidowej i niealkoholowej choroby tłuszczeniowej wątroby (NAFLD, *non-alcoholic fatty liver disease*). Dodatkowo przedstawiono możliwości modulacji składu mikrobioty przez stosowanie pro- i prebiotyków oraz transplantację kału.

MIKROBIOM — KOLEJNY ORGAN GOSPODARZA

W przewodzie pokarmowym człowieka żyje i namnaża się flora jelitowa, która składa się nie tylko z bakterii, archeonów, wirusów, eukaryota, ale także grzybów [4, 5]. Szacuje się, że dorosły człowiek jest gospodarzem około 1,5–2,0 kg tych drobnoustrojów, których genom zawiera nawet 100 razy większą liczbę genów niż genom człowieka [6]. Mikroflora jelitowa jest zdominowana przez bakterie należące do pięciu rodzajów: *Bacteroidetes* i *Firmicutes* (stanowią około 90% wszystkich bakterii), *Actinobacteria*, *Proteobacteria* oraz *Verrucomicrobia* [7]. Początkowo badania biocenozy jelit były nieliczne, z powodu trudności w hodowli mikroorganizmów w warunkach

laboratoryjnych. Obecnie intensywny rozwój technik analitycznych (w tym sekwencjonowanie genomu bakteryjnego i analiza metagenomu) pozwoliły na pogłębianie wiedzy o bakteriach niehodowlanych, ich funkcjach oraz możliwościach współdziałania z organizmem człowieka [6, 8].

Zarówno rodzaj, gatunek, jak i szczepy zasiedlających jelita bakterii zależą od wielu czynników, w tym porodu drogami natury czy przez cięcie cesarskie, karmienia niemowląt naturalnego czy sztucznego, wieku, miejsca zamieszkania, pH jelita, dostępności tlenu czy stosowanej diety [4, 9]. Ze względu na pełnione funkcje flory jelitowej w przewodzie pokarmowym niemożliwe jest życie człowieka bez zasiedlających go mikroorganizmów. Bakterie komensalne jelit uczestniczą w metabolizowaniu niestrawionych resztek pokarmowych (z których organizm czerpie dodatkową energię), w produkcji i przyswajaniu witamin, utrzymaniu homeostazy nabłonka jelitowego, ochronie przed bakteriami chorobotwórczymi, immunomodulacji oraz metabolizowaniu leków i farmaceutyków [10–13]. Stąd niektórzy uważają, że mikrobiom stanowi odrębny organ u swojego gospodarza.

Zaburzenia w równowadze pomiędzy ekosystemem bakterii probiotycznych a bakteriami patogennymi prowadzi do dysbiozy i jej konsekwencji dla ustroju gospodarza (jelito „przeciekające”, endotoksemia ogólnoustrojowa, nadwrażliwości pokarmowe). Skład mikrobioty jest silnie modyfikowany dietą gospodarza (szczególnie niekorzystna jest dieta tak zwana zachodnia — wysokotłuszczowa, wysokobiałkowa, ubogobłonnikowa) [14, 15]. Dysbiozę w przewodzie pokarmowym mogą też wywołać infekcje, zabiegi chirurgiczne, leki (w tym niesteroidowe leki przeciwzapalne [NLPZ], inhibitory pompy protonowej [IPP], antybiotyki, glikokortykosteroidy, metformina, suplementacja żelazem i inne), radio- i chemioterapia [16].

WPLYW MIKROBIOTY NA WYSTĘPOWANIE I LECZENIE OTYŁOŚCI

Pierwsze badania nad wpływem mikroorganizmów bytujących w jelicie na występowanie otyłości przeprowadzono na modelu mysim pozbawionym kontaktu z mikroorganizmami (GF-mice, *germ free mice*). W tym celu przeniesiono drobnoustroje z jelit myszy z genetycznie wywołaną otyłością (*ob/ob mice*) do jelit myszy GF. Już po dwóch tygodniach

od kolonizacji przewodu pokarmowego myszy GF zaobserwowano, że pozyskiwały one więcej kalorii z pożywienia i wykazywały znacznie większy przyrost tkanki tłuszczowej niż myszy, które otrzymały bakterie od szczupłych, zdrowych osobników [5]. W innym badaniu grupę kontrolną do myszy GF stanowiły myszy hodowane w warunkach tradycyjnych (CONV-R, *conventionally raised mice*) [8]. W początkowym okresie obserwacji myszy hodowane tradycyjnie miały około 40% więcej tkanki tłuszczowej niż myszy GF, niezależnie od ilości spożywanego pożywienia. Następnie po skolonizowaniu jelit myszy GF mikroflorą przeniesioną od myszy hodowanej tradycyjnie, u biorców zanotowano istotny statystycznie wzrost zawartości tkanki tłuszczowej, rozwój insulinooporności oraz znamienne wzrost wątrobowej produkcji triglicerydów [17]. W kolejnych badaniach przeniesienie mikroflory jelitowej od otyłych zwierząt do myszy GF powodowało przyrost masy ciała znacznie wyraźniejszy w porównaniu do myszy GF, których przewód pokarmowy zakolonizowano mikroflorą pobraną od zwierząt o prawidłowej masie ciała [5]. Wyniki tego doświadczenia próbowano wyjaśnić zwiększeniem wykorzystania energii z pożywienia przez myszy GF (biorców od otyłych zwierząt). W innym badaniu wykazano, że mikroorganizmy bytujące w jelitach mają zdolność syntetyzowania hydrolaz glikozydowych, czyli enzymów niezbędnych do rozkładania złożonych roślinnych polisacharydów (np. błonnika pokarmowego nierozpuszczalnego, który do tej pory był uważany za niestrawny dla organizmu człowieka) [18, 19]. Dodatkowe pozyskiwanie energii ze związków, które nie są rozkładane przez enzymy trawienne, a które powstają w wyniku fermentacji przeprowadzonej przez bakterie, może zwiększyć ilość energii dostarczanej do ustroju gospodarza o około 4–10% (czyli 80–200 kcal/dobę) [20]. W innych badaniach stwierdzono, że mikrobiota na drodze hydrolizy i fermentacji krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych SCFAs (kwasy propionowy, masłowy i octowy), które następnie mogą ulegać absorpcji, może zwiększać przyswajanie energii przez organizm gospodarza o 150 kcal/dobę [5, 17]. Poza tym kwas propionowy może być wykorzystywany w procesie syntezy glukozy i lipidów [21]. Na podstawie innych prac wykazano, że SCFAs mogą wpływać na apetyt gospodarza poprzez receptor Gpr41 oraz wpływ na sekrecję GLP-1 i receptor FFAR2 [22, 23], czas pasażu jelitowego [22], odzyskiwanie i wykorzysta-

nie energii [24], co stanowi główne składowe zwiększania bilansu energetycznego człowieka. Kwasy tłuszczowe SCFAs mogą również wpływać na pobór pokarmu przez organizm gospodarza poprzez wpływ na białka G produkowane przez komórki endokryne jelit, które stymulują uwalnianie molekularnych kontrolerów apetytu: glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1) oraz peptydu YY [22, 23]. Peptyd YY jest hormonem, który zmniejsza motorykę jelit, spowalnia pasaż jelitowy, co sprzyja zwiększonemu wchłanianiu składników odżywczych i rozwojowi otyłości [25]. Wydaje się, że korzystny wpływ na homeostazę energetyczną organizmu wykazuje kwas masłowy. Wykazano, że może on stymulować wytwarzanie leptyny w adipocytach i indukować wytwarzanie GLP-1 przez komórki L jelita [26]. W innym badaniu wykazano, że maślane nasilają procesy termogenezy, wpływają na zwiększenie utleniania kwasów tłuszczowych [27]. Ponadto zauważono, że wykazują one działania przeciwzapalne, obniżają uwalnianie cytokin i chemokin [26]. W badaniach na myszach karmionych dietą wysokotłuszczową wzbogaconą o maślane obserwowano poprawę wrażliwości na insulinę [27].

Inny mechanizm zwiększonego przyswajania energii z pożywienia przedstawili Stappenbeck i wsp. [28]. Stwierdzili oni, że niektóre rodzaje bakterii jelitowych, dzięki syntezie i wydzielaniu wielu związków chemicznych, mają zdolność podwajania gęstości naczyń włosowatych w nabłonku jelita cienkiego, co może sprzyjać zwiększonemu wchłanianiu monosacharydów w tym odcinku przewodu pokarmowego.

Natomiast mechanizmem, dzięki któremu mikroflora jelit może sprzyjać gromadzeniu tkanki tłuszczowej wydaje się blokowanie ekspresji czynnika tkankowego indukowanego głodem (FIAF, *fasting-induced adipocyte factor*), który hamuje działanie lipazy lipoproteinowej (LPL, *lipoprotein lipase*) [17]. Obniżona ekspresja FIAF prowadzi do zwiększenia aktywności LPL w komórkach tłuszczowych, przez co nasila procesy magazynowania energii w postaci tłuszczu. Potwierdzono to w doświadczeniu na modelu zwierzęcym, gdzie po przeniesieniu drobnoustrojów z jelita myszy hodowanych tradycyjnie do myszy GF, obserwowano zahamowanie ekspresji czynnika FIAF, co nasiliło ekspresję LPL i powodowało kumulację kwasów tłuszczowych w adipocytach [17, 29].

W badaniach u myszy z genetycznie wywołaną otyłością zaobserwowano zmiany

ekosystemu jelitowego, który w porównaniu ze zwierzętami o prawidłowej masie ciała, zawierał o 50% mniej bakterii *Bacteroidetes* i proporcjonalnie więcej bakterii *Firmicutes* [30]. Wyniki badań na modelu zwierzęcym zainspirowały badaczy do przeprowadzenia podobnych analiz na mikroflorze ludzkiej. Ley i wsp. [31] stwierdzili analogiczne różnice u otyłych osób (spadek liczebności *Bacteroidetes* i proporcjonalny wzrost *Firmicutes*), natomiast w innym badaniu wykazano spadek liczebności *Bacteroidetes* i wzrost liczebności *Actinobacteria* [32]. Są też badania, których wyniki nie potwierdziły spadku liczebności *Bacteroidetes* w trakcie analizy mikrobioty jelitowej osób otyłych [21]. Duncan i wsp. [33] wykazali brak istotnych różnic w stosunku *Bacteroidetes/Firmicutes* u pacjentów otyłych i o prawidłowej masie ciała. Kolejną różnicą stwierdzaną w mikroflorze osób otyłych względem szczupłych jest większa liczebność bakterii metanogennych u osób otyłych, co może usprawnić procesy fermentacyjne przeprowadzane przez te bakterie [5]. Potwierdzeniem tego mogą być badania nad głównym przedstawicielem archeonów *Methanobrevibacter smithii*, które wykazały wpływ tego drobnoustroju na usprawnienie procesów fermentacji polisacharydów w świetle jelita i wzrost pozyskiwania energii z pożywienia [34]. Wciąż jednak do końca nie wiadomo, dlaczego i w jaki sposób mikroflora jelit osobników otyłych ma zdolność odzyskiwania większej ilości energii z pożywienia i wymaga to prowadzenia dalszych badań. Wiadomym jest jednak, że na skutek operacyjnego leczenia otyłości metodą zespolenia omijającego żołądkowo-jelitowego z pętlą Roux-en-Y (RYGB, *Roux-en-Y gastric bypass*) badacze stwierdzili u pacjentów wzrost liczebności *Bacteroidetes* oraz to, że im wyższy był stosunek *Bacteroidetes* do *Proteobacteria*, tym większy był obserwowany spadek masy tkanki tłuszczowej i stężenia leptyny w surowicy krwi [31, 35].

WPŁYW DIETY NA KSZTAŁTOWANIE EKOSYSTEMU JELITOWEGO

Dieta odgrywa istotną rolę w budowaniu mikrobioty jelitowej. De Filippo i wsp. [36] analizowali mikroflorę kału dzieci europejskich (u których dieta oparta była na produktach wysokotłuszczowych i wysokowęglowodanowych a ubogich w błonnik pokarmowy) oraz mikroflorę dzieci pochodzących z terenów wiejskich Burkina Faso (dieta niskokaloryczna, bogatobłonnikowa). U dzieci z Burkina Faso

wykazano zwiększoną ilość *Bacteroidetes* i obniżoną ilość *Firmicutes*, duże ilości *Proteobacteria* i *Xylanibacter*, przy jednocześnie mniejszej ilości w porównaniu z dziećmi europejskimi gatunków *Enterobacteriaceae* (rodzaje *Shigella* i *Escherichia*). Wydaje się więc, że poszczególne drobnoustroje mikroflory jelitowej są ściśle powiązane ze składem spożywanych pokarmów, stąd u dzieci z Burkina Faso, u których dieta opierała się w głównej mierze o składniki roślinne wzrastała znacząco liczba *Proteobacteria* i *Xylanibacter*. W innym badaniu wykazano, że zmiana diety niskotłuszczowej na wysokotłuszczową powoduje (niezależnie od stanu odżywienia badanych osób) znaczące różnice ilościowe w składzie mikrobioty, obniża się liczebność bakterii *Bacteroidetes* przy jednoczesnym wzroście liczebności bakterii *Firmicutes* i *Proteobacteria* [37]. Również w badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że dieta bogata w tłuszcze wywołuje zmiany jakościowe i ilościowe w biocenozie jelit u otyłych zwierząt, zmieniając stosunek *Bacteroidetes/Firmicutes* [15]. Regularne spożycie czerwonego mięsa oraz diety zachodniej faworyzuje w jelicie rozwój *Bacteroidetes*, gdzie w metagenomie ekspresji podlegają geny, których produkty są zaangażowane w rozkład białek. I tak u pacjentów spożywających duże ilości produktów pochodzenia zwierzęcego wykazano wzrost ilości mikroorganizmów produkujących proteazy, tj. *Alistipes*, *Bifidobacterium* i *Bacteroides*, a spadek ilości *Firmicutes* tj. *Roseburia*, *Eubacterium rectale* i *Ruminococcus bromii* (zaangażowanych w rozkład polisacharydów roślinnych) [38].

Zauważono też, że dieta bogata w tłuszcze nasycone predysponuje do zwiększenia masy ciała i otyłości trzewnej poprzez wzrost odzyskiwania energii z pożywienia będących wynikiem modyfikacji składu mikrobioty [39]. Wyniki innych badań wykazały, że dieta wysokotłuszczowa obniża ilość *Bifidobacterium*, głównych producentów kwasu masłowego biorącego udział w utrzymaniu integralności bariery jelitowej [40] oraz powoduje wzrost bakterii redukujących siarczany, a produkujących toksyny z rodziny *Desulfovibrionaceae*, co również zaburza funkcje barierowe jelita [41]. Poza tym badana dieta zachodnia (bogatotłuszczowa i niskobłonnikowa) sprzyja rozrostowi bakterii chorobotwórczych Gram-ujemnych z następową translokacją bakteryjnych lipopolisacharydów [14]. Zdaniem autorów lipopolisacharydy, oddziałując z receptorami TLR-4/CD14, wywołują kaskadę zaburzeń im-

munologicznych w organizmie gospodarza [42] i prowadzą do rozwoju otyłości, insulinooporności oraz cukrzycy typu 2 [14].

Jak wspomiano, 20% wzrost liczby *Firmicutes* i analogiczny spadek liczby *Bacteroidetes* odpowiada za zwiększenie o 150 kcal/dobę poboru energii z pożywienia [43]. Człowiekowi do przybrania na wadze o 1 kg potrzebne jest dodatkowe zwiększenie bilansu energetycznego o 7000 kcal, co mogłoby nastąpić w tym przypadku w ciągu niecałych dwóch miesięcy. Ley i wsp. wykazali jednak identyczną zawartość *Bacteroidetes* i *Firmicutes* u osób otyłych odżywiających się pokarmami wysokotłuszczowymi oraz po zmianie diety na niskotłuszczową [31]. Można też wyszukać prace, których autorzy sugerują, że nie ma korelacji między proporcją *Bacteroidetes/Firmicutes* a dietą i BMI (*body mass index*) [44]. Dlatego nie do końca wiadomo, czy zmiany w składzie mikrobioty u otyłych ludzi są skutkiem czy przyczyną otyłości, co skłania badaczy do dalszych badań. Główne charakterystyki mikrobioty jelitowej u otyłych pacjentów wskazują jednak na spadek różnorodności, zmniejszenie ilości bakterii komensalnych o właściwościach przeciwzapalnych i wzrost ilości drobnoustrojów patogennych. Zmiany jakościowe w ekosystemie jelitowym u otyłych polegające na zmniejszeniu ilości gatunku *Akkermansia muciniphila* (wykazującego właściwości przeciwzapalne) oraz wzrost ilości patogenów *Campylobacter* i *Shigella* skutkowało obniżeniem produkcji maślanu gwarantującego integralność bariery jelitowej i ochronę przed stresem oksydacyjnym [45].

MIKROBIOTA A CUKRZYCA TYPU 2

Wpływ mikrobioty na cukrzycę typu 2 został zaobserwowany na modelu mysim, w którym myszom ob/ob podano antybiotyki (norfloksacynę i ampicylinę) i stwierdzono zmiany w składzie mikroflory jelitowej względem myszy nie leczonych antybiotykami, a przy tym poprawę badanych parametrów w surowicy krwi (glikemii na czczo, insulino-wrażliwości oraz tolerancji glukozy) [46]. Natomiast w innym badaniu również myszom ob/ob podano ampicylinę i neomycynę, co skutkowało obniżeniem stężenia endotoksyn oraz czynników zapalnych we krwi [47]. Również ostatnie badania donoszą, że bakterie jelitowe mogą wpływać na rozwój insulinooporności i cukrzycy poprzez udział mikrobioty w inicjacji metabolicznej endotoksemii. Stan zapalny

w błonie śluzowej jelita (jako skutek dysbiozy) powoduje utratę integralności bariery jelitowej, co zwiększa jej przepuszczalność dla bakterii, lipopolisacharydu bakteryjnego, wysoce prozapalnego elementu ściany komórkowej bakterii wchodzących w skład mikrobioty jelitowej i innych cząstek bakteryjnych. W modelu mysim dożylne podanie lipopolisacharydów okazało się standardowym postępowaniem w celu wywoływania u nich insulinooporności oraz otyłości [14]. Również u ludzi podaż wysokoenergetycznego pożywienia wywołuje wzrost krążących w ustroju lipopolisacharydów [48], których stężenie jest wyższe u osób z cukrzycą niż u osób zdrowych i obniża się przy antybiotykoterapii rozyglitazonem [49]. Zaobserwowano, że dieta wysokotłuszczowa promuje rozwój w jelicie bakterii zawierających lipopolisacharydy i dodatkowo wpływa na zwiększone ich stężenie w surowicy krwi. Natomiast u myszy ze zmutowanymi genami *CD14/TLR-4* obserwowano oporność na skutki diety wysokotłuszczowej oraz były one jednocześnie odporne na działanie lipopolisacharydów, co z kolei wiązano z obniżoną ekspresją szlaków immunologicznych w wątrobie [14, 50]. Wywołana przez lipopolisacharydy endotoksemia wydaje się więc pierwszym etapem rozwoju insulinooporności oraz cukrzycy typu 2 [14].

Stwierdzono, że u osób z wczesnym etapem rozwoju insulinooporności we krwi krążą głównie (85–90%) bakterie należące do gromady *Proteobacteria*, co może stanowić marker diagnostyczny rozwoju cukrzycy [51]. Kolejnym wskaźnikiem może się okazać obniżenie liczby producentów kwasu masłowego (*Akkermansia muciniphila* i *Faecalibacterium prausnitzii*) oraz bakterii *Verrucomicrobiae*, co koreluje ze spadkiem wrażliwości na insulinę [52]. Wiadomo, że maślan pełni w jelitach rolę ochronną wzmagając poziom ekspresji genów ścisłych połączeń zamykających i redukuje tym samym możliwość translokacji bakteryjnej [53]. Również w innym badaniu u otyłych chorych na cukrzycę obserwowano istotne zmniejszenie liczebności bakterii *Faecalibacterium prausnitzii*, gdzie po bariatrycznym leczeniu otyłości u tych pacjentów, obserwowano wzrost liczebności *Faecalibacterium prausnitzii* [35]. Ponieważ po operacji obserwowano też skorelowany z liczebnością tych bakterii spadek markerów stanu zapalnego (białka CRP [*C-reactive protein*] i IL-6 [*interleukine 6*]), powiązano rolę mikrobioty z patogenezą insulinooporności u tych chorych. Dodatkowo po operacji zaobserwowano obniżenie stężenia

glukozy, insuliny i glikowanej hemoglobiny oraz mniejszą insulinooporność (mierzoną wskaźnikiem HOMA-IR [*homeostatic model assessment-insulin resistance*]).

Bardzo ciekawe było też badanie z transplantacją kału od dawców szczupłych do biorców z cukrzycą typu 2, gdzie badacze po skolonizowaniu przewodu pokarmowego biorców zauważyli wzrost ilości bakterii produkujących maślan, co korelowało ze wzrostem wrażliwości na insulinę [54]. Tak więc wydaje się, że udział mikrobioty w patogenezie cukrzycy typu 2 może wiązać się z rozwojem metabolicznej endotoksemii oraz obniżeniem ilości bakterii produkujących kwas masłowy w jelitach, a wzrostem bakterii patogennych.

MIKROBIOTA A NAFLD ORAZ ZABURZENIA GOSPODARKI LIPIDOWEJ

W badaniach, zarówno na zwierzętach jak i na ludziach, potwierdzono związek między mikrobiotą jelitową a rozwojem NAFLD [55]. Do występowania tego schorzenia może się również przyczyniać żywność wysokoenergetyczna i/lub wysokotłuszczowa, która także może zmieniać skład ekosystemu jelitowego [56]. W badaniach na myszach GF wykazano, że mikrobiota jelitowa może wpływać na wzrost syntezy triglicerydów i akumulację kwasów tłuszczowych w hepatocytach [17]. W badaniu na myszach ob/ob podanie norfloksacyny i ampicyliny prowadziło nie tylko do znacznej poprawy tolerancji glukozy, ale stwierdzono również obniżone stężenie triglicerydów w wątrobie oraz lipopolisacharydów we krwi, zwiększoną ilość glikogenu w wątrobie oraz adiponektyny we krwi [46]. Jednocześnie w innym badaniu wykazano, że krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe wpływają na metabolizm lipidów, nasilają lipogenezę [17] i obniżają utlenianie kwasów tłuszczowych [7, 57]. Mikroflora jelitowa może wpływać na metabolizm lipidów gospodarza, hamując aktywność kinazy białkowej aktywowanej przez AMP-AMPK (*adenosine monophosphate activated protein kinase*) [58]. Coraz częściej autorzy wiążą występowanie NAFLD ze stanem zapalnym wywołanym dysbiozą w przewodzie pokarmowym i zmianą integralności bariery jelitowej [59]. Poza tym mikrobiota wpływa na syntezę kwasów żółciowych i ich przemiany w organizmie. Natomiast kwasy żółciowe mogą aktywować szlaki sygnałowe poprzez receptory jądrowe (FXR, *farnesoid X receptor*) oraz te znajdujące się na powierzchni komórki

(GPCRs, *G protein-coupled receptors*) i brać udział w szlakach metabolizmu glukozy i lipidów [60, 61]. Innym receptorem błonowym aktywowanym przez kwasy żółciowe może być receptor TGR5 [62]. Przekazywanie sygnału przez TGR5 powoduje zwiększenie stężenia cAMP, co prowadzi do wzmożonego zużycia energii w obrębie brunatnej tkanki tłuszczowej (co powoduje zapobieganie otyłości i insulinooporności).

W badaniu na szczurach leczonych polimiksyną B (antybiotykiem, którego spektrum działania celowane jest na bakterie Gram-ujemne) wykazano spadek zawartości lipopolisacharydu (LPS, *lipopolysaccharide*) w osoczu krwi, zmniejszoną częstość występowania insulinooporności, stłuszczeniowego zapalenia wątroby oraz zaburzeń gospodarki lipidowej [63].

Kolejnym czynnikiem mogącym mieć wpływ na rozwój stłuszczenia wątroby jest możliwość produkowania etanolu przez mikroflorę jelitową. Wykazano, że u myszy ob/ob ilość wydychanego z powietrzem etanolu była znacząco większa niż u myszy z prawidłową masą ciała, natomiast zastosowana antybiotykoterapia zmniejszyła o około 50% redukcję ilości produkowanego alkoholu etylowego u tych myszy [64]. Również u pacjentów z NASH (*nonalcoholic steatohepatitis*) wykazano wzrost ilości krążącego alkoholu etylowego wywołanego zmianą mikroflory jelitowej (przerost bakterii *Enterobacteriaceae* i *Escherichia coli*) [65]. Inny proponowany mechanizm wyjaśniający rolę mikrobioty w rozwoju NAFLD to zaburzony metabolizm choliny [66] i kwasów tłuszczowych [61]. Zaobserwowano, że karmienie myszy dietą wysokotłuszczową powoduje przekształcanie przez ich mikrobiotę choliny pochodzącej z pożywienia, w hepatotoksyczne metyloaminy [66]. Cholina jest niezbędna do wydzielania syntetyzowanej w wątrobie lipoproteiny VLDL (*very low-density lipoprotein*), której główna funkcja polega na transportowaniu lipidów z wątroby do adipocytów. Tak więc zmniejszona dostępność choliny może być przyczyną insulinooporności i stłuszczeniowego zapalenia wątroby [66]. Zaburzony metabolizm choliny obserwowano też u chorych żywionych pozajelitowo, a suplementacja tego związku była wyraźnie związana z obniżeniem akumulacji tłuszczu w wątrobie [67]. Ponadto wyizolowano konkretne gatunki bakterii biorące udział w kontroli ilości tłuszczu gromadzonego w wątrobie (*Gammaproteobacteria* i *Erysipelotrichi*),

których liczebność uległa zmianie przy stosowaniu diety uboższej w cholinę [68]. Zaobserwowano też, że eksperymentalnie wywołana endotoksemia aktywowała odpowiedź zapalną wątroby poprzez aktywację komórek Kupffera w drodze mediowanej przez TLR-4 [69]. Wydaje się jednak, że głównym mechanizmem mogącym prowadzić do rozwoju NAFLD jest dysbioza jelitowa oraz wzrost przepuszczalności jelit prowadzący do metabolicznej endotoksемii. U otyłych pacjentów z NAFLD częstość SIBO i wzrost przepuszczalności jelit są zdecydowanie częstsze w porównaniu z osobami zdrowymi, a natężenie tych zmian było dodatnio skorelowane z intensywnością stłuszczenia wątroby [70].

MOŻLIWOŚCI MODULACJI MIKROFLORY JELITOWEJ W CELU LECZENIA ZABURZEŃ METABOLICZNYCH I OTYŁOŚCI

Wykazane zmiany mikroflory jelitowej u osób otyłych w stosunku do osób szczupłych i ich wpływ na preferencje smakowe, wykorzystanie energii z pożywienia, motorykę przewodu pokarmowego oraz metabolizm glukozy i lipidów sprawiły, że rozpoczęto badania ze stosowaniem celowanych rodzajów i szczepów bakteryjnych w profilaktyce i leczeniu otyłości oraz chorób współistniejących. W licznych badaniach wykazano, że szczepy probiotyczne, w szczególności bakterie z rodzajów *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium* wpływają korzystnie na procesy utraty masy ciała, zmniejszenie intensywności stanu zapalnego w jelicie, uszczelniają barierę jelitową (zwłaszcza *Bifidobacterium* — przyczyniają się do wzrostu ekspresji genów kodujących białka połączeń ścisłych pomiędzy enterocytami) [71, 72], korzystnie wpływają na zmniejszenie ilości tkanki tłuszczowej trzewnej i rozmiar adipocytów (zwłaszcza *Lactobacillus*) [73–75]. W badaniach na modelach zwierzęcych z wykorzystaniem szczepów *Bifidobacterium* wykazano głównie poprawę parametrów metabolicznych w surowicy krwi. W badaniu myszy C57BL/6 z zastosowaniem szczepu *Bifidobacterium breve* B-3 uzyskano obniżenie stężenia cholesterolu, glukozy, insuliny i wskaźnika HOMA w surowicy krwi oraz obniżenie masy ciała i ilości tłuszczu w najądrzach [76]. Potwierdzono to też w badaniu z *Bifidobacterium pseudocatenulatum* CECT 7765, gdzie po 7 tygodniach stosowania probiotycznego szczepu zauważono wzrost ekspresji FIAF i adiponektyny, obniżenie stężenia cholesterolu, triglice-

rydów, glukozy w surowicy, insulinooporności, leptyny, IL-6 oraz ilości tkanki tłuszczowej [77]. Natomiast poprawę tolerancji glukozy, poprawę sprawności układu immunologicznego, obniżenie stężenia endotoksyn i zapalenia jelita obserwowano w badaniu szczurów karmionych dietą wysokotłuszczową i suplementowanym szczepem *Bifidobacterium longum* [78]. W badaniach na modelu zwierzęcym z wykorzystaniem szczepów *Lactobacillus* (głównie *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. paracasei* oraz *L. acidophilus*) uzyskano w różnym czasie stosowania (8 dni do 12 tygodni) obniżenie masy ciała i tkanki tłuszczowej trzewnej, poprawę parametrów gospodarki węglowodanowej, lipidowej oraz stłuszczenia wątroby [73–75, 79–85]. Natomiast w przypadku zastosowania u myszy *Lactobacillus rhamnosus* GG [81] czy *Lactobacillus reuteri* ATCC PTA 4659 [82] uzyskano wzrost utleniania kwasów tłuszczowych.

Leczenie otyłości trzewnej u ludzi bardzo utrudnia współistniejąca insulinooporność czy endotoksemia metaboliczna. Wykazano, że mikroorganizmy z rodzaju *Lactobacillus* poprawiają wrażliwość na insulinę, oddziałując na ekspresję leptyny i syntetazy kwasów tłuszczowych, stymulują utlenienie kwasów tłuszczowych oraz hamują aktywność lipazy lipoproteinowej (przez białko angiopoetynopodobne) [79–81, 84, 85]. Obiecujące wyniki z podawaniem probiotyku zawierającego *Lactobacillus gasseri* SBT2055 uzyskano w badaniu trwającym 12 tygodni (randomizowanym, z użyciem placebo), w którym wykazano istotny spadek masy ciała, zmniejszenie zawartości tkanki tłuszczowej podskórnej i trzewnej [86]. W badaniu randomizowanym z podwójnie ślełą próbą z zastosowaniem u otyłych osób szczepu *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC1.3724 wykazano, że tylko u otyłych kobiet (nie potwierdzono tego u otyłych mężczyzn) probiotyk ten wpływał korzystnie na redukcję masy ciała, zmniejszenie tkanki tłuszczowej oraz stężenie leptyny w surowicy krwi [87]. W badaniu trwającym 12 tygodni u pacjentów z nadwagą po zastosowaniu szczepów *Lactobacillus gasseri* SBT2055 uzyskano redukcję masy ciała, zmniejszenie ilości tkanki tłuszczowej trzewnej i podskórnej, BMI, obwodu talii i bioder oraz wzrost stężenia adiponektyny w surowicy krwi [86]. Natomiast w kolejnym badaniu z tym szczepem bakterii, ale u osób otyłych, po 12 tygodniach suplementowania również uzyskano redukcję masy ciała, BMI, obwodu talii i bioder oraz masy tkanki tłuszczowej [88].

W badaniu trwającym 90 dni u kobiet z menopauzalnym zespołem metabolicznym, którym podawano *Lactobacillus plantarum*, wykazano obniżenie stężenia glukozy i homocysteiny w surowicy krwi [89]. Zastosowanie probiotyku wieloszczepowego VSL#3 istotnie wpłynęło na poprawę tolerancji glukozy oraz zwiększenie produkowanych w jelicie SCFAs, w tym kwasu masłowego [90].

W leczeniu osób otyłych zastosowanie znajdują również prebiotyki (nieulegające trawieniu polisacharydy), których zadaniem jest selektywna stymulacja wzrostu i/lub aktywności wybranych rodzajów/gatunków mikroflory jelitowej [91]. Najczęściej analizowano wpływ inuliny oraz różnego rodzaju frukto-oligosacharydów. W modelach zwierzęcych prebiotyki najczęściej zmieniały skład mikroflory jelitowej, stymulowały wzrost *Bifidobacteria* [72, 92, 93], *Bacteroidetes* [92–94], *Prevotella* i *Roseburia* [92], a relatywnie zmniejszały populację *Firmicutes* [93, 94]. W badaniach na szczurach wykazano, że dodanie do diety wysokotłuszczowej oligofruktozy zwiększało stężenie wydzielanej insuliny, obniżało stężenie glukozy we krwi, zmniejszało ilość uzyskiwanej energii z pożywienia oraz ograniczało przyrost masy ciała i tkanki tłuszczowej względem grupy kontrolnej (było to działanie hormonów jelitowych, inkretyn) [95]. Również w innych badaniach prebiotyki wpływając na kontrolę łaknienia (poprzez stymulację GLP-1 i peptydu YY oraz ograniczenie produkcji greliny) przyczyniały się do obniżenia masy ciała, tkanki tłuszczowej i rozmiaru adipocytów oraz akumulacji kwasów tłuszczowych w wątrobie [92, 93, 95, 96]. W badaniu na myszach, żywionych dietą wysokotłuszczową, otrzymujących oligofruktozę zaobserwowano poprawę kolonizacji *Bifidobacterium*, co korelowało też z lepszą tolerancją glukozy, wydzielaniem insuliny pod wpływem zwiększonego stężenia glukozy oraz normalizację czynników prozapalnych [72]. Prebiotykom przypisuje się też ograniczanie stanu zapalnego w jelicie, poprawę integralności bariery jelitowej i wzrostu syntezy GLP-2 [92, 97] oraz poprawę tolerancji glukozy (oligofruktoza, arabinoksyloza) [92, 96]. Natomiast metaanaliza badań klinicznych u ludzi z użyciem prebiotyków w chorobach metabolicznych nie dała jednoznacznych wyników [98]. Badanie z zastosowaniem oligofruktozy przez 12 tygodni u osób dorosłych z nadwagą i otyłością spowodowało jednak redukcję masy ciała, ilości greliny, kaloryczności posiłków, stężenia

glukozy i insuliny w surowicy krwi oraz wzrost stężenia peptydu YY [99]. U otyłych kobiet z dyslipidemią zastosowanie oligofruktozy przez 120 dni zredukowało masę ciała, BMI, obwód talii oraz obniżyło stężenia cholesterolu całkowitego i frakcji LDL w surowicy krwi [100]. Obserwowano też korzystne zmiany ekosystemu jelitowego u otyłych kobiet po zastosowaniu przez 3 miesiące fruktanów — inuliny (wzrosła ilość *Bifidobacterium* i *Faecalibacterium prausnitzii* natomiast obniżyła ilość *Bacteroidetes* oraz *Propionibacterium*), odnotowano też obniżenie stężenia LPS [101].

Wydaje się, że zmiana diety u osób otyłych na dietę redukcyjną zbilansowaną i zwiększenie aktywności fizycznej może również przynieść poprawę składu mikrobioty jelitowej [102, 103], ale jest to znacznie mniej skuteczne działanie wobec stanu zapalnego u tych pacjentów [104]. Kolejne ciekawe obserwacje poczyniono w badaniach składu mikrobioty po operacyjnym leczeniu otyłości, zwłaszcza metodą RYGB [35, 105, 106]. Zaobserwowano wzrost ilości względnych beztlenowców, szczególnie *Gammaproteobacteria*, oraz zmniejszenie liczby *Firmicutes*, w szczególności bakterii metanotwórczych (odpowiedzialnych za wzrost odzysku energii z pożywienia). U pacjentów po RYGB znacznie redukujących masę ciała zaobserwowano wzrost populacji bakterii grupy *Bacteroides-Prevotella*, w szczególności *Faecalibacterium prausnitzii*, o silnych właściwościach przeciwzapalnych [35]. W innym badaniu po wykonaniu u otyłych zabiegu RYGB obserwowano wzrost produkcji w jelicie kwasu gamma-amino-masłowego, co dodatkowo wzmagало uwalnianie GLP-1 i peptydu YY [106], a u operowanych otyłych z cukrzycą typu 2 występował wzrost wrażliwości na insulinę [107], co też mogło być skutkiem restrykcji dietetycznych. Należy jednak dodać, że po operacji RYGB obserwowano też niekorzystne zmiany w ekosystemie jelitowym, wzrost liczby bakterii patogennych, na przykład *Escherichia coli* i spadku bakterii komensalnych rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* [35], co być może stanie się podstawą do suplementowania diety tymi gatunkami/szczepami.

Transplantacja kału jako alternatywna metoda leczenia otyłości została opisana w innym artykule [108].

PODSUMOWANIE

Na podstawie przeglądu literatury tematu można stwierdzić, że dysbioza jelitowa

oraz uszkodzenie bariery jelitowej wpływają niekorzystnie na otyłość i składowe zespołu metabolicznego oraz utrudniają leczenie tych schorzeń. Na podstawie dużej metaanalizy badań nad wpływem stosowania antybiotyków, pro- i prebiotyków oraz synbiotyków w celu redukcji masy ciała u osób otyłych w różnych grupach wiekowych stwierdzono, że nie obserwuje się istotnego efektu u dzieci i młodzieży, natomiast niewielką, ale istotną różnicę w zmniejszaniu masy ciała i BMI u osób dorosłych [109]. Natomiast główny cel podawanie probiotyków i synbiotyków u osób z nadwagą czy otyłością polega na korzystnym ich wpływie na procesy metaboliczne [3]. Pro- i prebiotyki mogą być też pomocne w zmniejszaniu stanu zapalnego w ustroju oraz w prawidłowej pracy bariery jelitowej [3, 110, 111]. Najskuteczniejsze metabolicznie gatunki bakterii to *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus gasei*, *Bifidobacterium lactis*. Konieczne są jednak dalsze randomizowane badania kliniczne, których wyniki wskażą szczepy, ich dawkowanie i czas stosowania w leczeniu otyłości i chorób towarzyszących.

Piśmiennictwo:

1. Swinburn B., Dietz W., Kleinert S. A Lancet Commission on obesity. *Lancet* 2015; 386: 1716–1717.
2. World Health Organization. Obesity and overweight, updated January 2015, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>; 5.11.2015.
3. Festi D., Schiumerini R., Eusebi L.H., Marasco G., Taddia M., Colecchia A. Gut microbiota and metabolic syndrome. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20: 16079–16094.
4. Di Baise J.K., Zhang H., Crowell M.D. i wsp. Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clin. Proc.* 2008; 83: 460–469.
5. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A. i wsp. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444: 1027–1031.
6. Marchesi J., Shanahan F. The normal intestinal microbiota. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2007; 20: 508–513.
7. Frank D.N., St Amand A.L., Feldman R.A. i wsp. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007; 104: 13780–13785.
8. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M. i wsp. The human microbiome project. *Nature* 2007; 449: 804–810.
9. Favier C.F., Vaughan E.E., De Vos W.M., Akkermans A.D. Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68: 219–226.
10. Fukuda S., Ohno H. Gut microbiome and metabolic diseases. *Semin. Immunopathol.* 2014; 36: 103–114.
11. Hooper L.V., Littman D.R., Macpherson A.J. Interaction between the microbiota and the immune system. *Science* 2012; 336: 1268–1273.
12. Jia W., Li H., Zhao L., Nicholson J.K. Gut microbiota: a potential new territory for drug targeting. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2008; 7: 123–129.
13. Neu J., Douglas-Escobar M., Lopez M. Microbes and the developing gastrointestinal tract. *Nutr. Clin. Pract.* 2007; 22: 174–182.
14. Cani P.D., Amar J., Iglesias M.A. i wsp. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761–1772.
15. Turnbaugh P.J., Bäckhed F., Fulton L., Gordon J.I. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host. Microbe* 2008; 3: 213–223.
16. Marlicz W., Zawada I., Starzyńska T. Zespół nadwrażliwego jelita — nadwrażliwe jelito czy nadwrażliwy umysł? *Polski Merkuriusz Lekarski* 2012; XXXII, 187: 64–69.
17. Bäckhed F., Ding H., Wang T. i wsp. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004; 101: 15718–15723.
18. Bajzer M., Seeley R.J. Physiology: obesity and gut flora. *Nature* 2006; 444: 1009–1010.
19. Flint H.J., Bayer E.A., Rincon M.T. i wsp. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. *Nat. Rev. Microbiol.* 2008; 6: 121–131.
20. Harris K., Kassis A., Major G., Chou C.J. Is the gut microbiota a new factor contributing to obesity and its metabolic disorders? *J. Obes.* 2012; 2012: 879151.
21. Schwiertz A., Taras D., Schäfer K. i wsp. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring)*, 2010; 18: 190–195.
22. Samuel B.S., Shaito A., Motoike T. i wsp. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 16767–16772.
23. Tolhurst G., Heffron H., Lam Y.S. i wsp. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes* 2012; 61: 364–371.
24. Hooper L.V., Wong M.H., Thelin A. i wsp. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 2001; 291: 881–884.
25. Grudell A.B., Camilleri M. The role of peptide YY in integrative gut physiology and potential role in obesity. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 2007; 14: 52–57.
26. Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J. i wsp. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science* 2012; 336: 1262–1267.
27. Gao Z., Yin J., Zhang J. i wsp. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes* 2009; 58: 1509–1517.
28. Stappenbeck T.S., Hooper L.V., Gordon J.I. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cell. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99: 15451–15455.
29. Mandard S., Zandbergen F., van Straten E. i wsp. The fasting-induced adipose factor/angiopoietin-like protein 4 is physically associated with lipoproteins and governs plasma lipid levels and adiposity. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 934–944.
30. Ley R.E., Bäckhed F., Turnbaugh P.J. i wsp. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005; 102: 11070–11075.
31. Ley R.E., Turnbaugh P.J., Klein S., Gordon J.I. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022–1023.

32. Turnbaugh P.J., Ridaura V. K., Faith J.J i wsp. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci. Transl. Med.* 2009; 1(6): 6ra14.
33. Duncan S.H., Lobleby G.E., Holtrop G. i wsp. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int. J. Obes. (Lond.)* 2008; 32: 1720–1724.
34. Samuel B.S., Hansen E.E., Manchester J.K. i wsp. Genomic and metabolic adaptation of *Methanobrevibacter smithii* to human gut. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007; 104: 10643–10648.
35. Furet J.P., Kong L.C., Tap J. i wsp. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes* 2010; 59: 3049–3057.
36. De Filippo C., Cavalieri D., Di Paola M. i wsp. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010; 107: 14691–14696.
37. Hildebrandt M.A., Hoffmann C., Sherrill-Mix S.A. i wsp. High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology* 2009; 137: 1716–1724.
38. David L.A., Maurice C.F., Carmody R.N. i wsp. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014; 505: 559–563.
39. Shen W., Gaskins H.R., McIntosh M.K. Influence of dietary fat on intestinal microbes, inflammation, barrier function and metabolic outcomes. *J. Nutr. Biochem.* 2014; 25: 270–280.
40. Brinkworth G.D., Noakes M., Clifton P.M., Bird A.R. Comparative effects of very low-carbohydrate, high-fat and high-carbohydrate, low-fat weight-loss diets on bowel habit and faecal short-chain fatty acids and bacterial populations. *Br. J. Nutr.* 2009; 101: 1493–1502.
41. Zhang C., Zhang M., Wang S. i wsp. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *ISME J.* 2010; 4: 232–241.
42. Wright S.D., Ramos R.A., Tobias P.S. i wsp. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 1990; 249: 1431–1433.
43. Jumpertz R., Le D.S., Turnbaugh P.J. i wsp. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *AM. J. Clin. Nutr.* 2011; 94: 58–65.
44. Arumugam M., Raes J., Pelletier E. i wsp. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473: 174–180.
45. Le Chatelier E., Nelson T., Qin J. i wsp. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 2013; 500: 541–546.
46. Membrez M., Blancher F., Jaquet M., Bibiloni R. i wsp. Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J.* 2008; 22: 2416–2426.
47. Cani P.D., Bibiloni R., Knauf C. i wsp. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 2008; 57: 1470–1481.
48. Amar J., Burcelin R., Ruidavets J.B. i wsp. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 87: 1219–1223.
49. Creely S.J., McTernan P.G., Kusminski C.M. i wsp. 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–E747.
50. Shi H., Kokoeva M.V., Inouye K. i wsp. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 2006; 116: 3015–3025.
51. Amar J., Serino M., Lange C. i wsp. Involvement of tissue bacteria in the onset of diabetes in humans: evidence for a concept. *Diabetologia* 2011; 54: 3055–3061.
52. Zhang X., Shen D., Fang Z. i wsp. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One* 2013; 8: e71108
53. Lewis K., Lutgendorff F., Phan V. i wsp. Enhanced translocation of bacteria across metabolically stressed epithelia is reduced by butyrate. *Inflamm. Bowel. Dis.* 2010; 16: 1138–1148.
54. Vrieze A., Van Nood E., Holleman F. i wsp. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012; 143: 913–916.e7.
55. Alisi A., Ceccarelli S., Panera N., Nobili V. Causative role gut microbiota in non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2012; 2: 132.
56. Mishra A.K., Dubey V., Ghosh A.R. Obesity: An overview of possible role(s) of gut hormones, lipid sensing and gut microbiota. *Metab. Clin. Experimental* 2016; 65: 48–65
57. Bäckhed F., Manchester J.K., Semenkovich C.F., Gordon J.I. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007; 104: 979–984.
58. Bäckhed F., Crawford P.A., O'Donnell D., Gordon J.I. Postnatal lymphatic partitioning from the blood vasculature in the small intestine requires fasting-induced adipose factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007; 104: 606–611.
59. Vreugdenhil A.C., Rousseau C.H., Hartung T. i wsp. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein mediates LPS detoxification by chylomicrons. *J. Immunol.* 2003; 170: 1399–1405.
60. Lefebvre P., Cariou B., Lien F. i wsp. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol. Rev.* 2009; 89: 147–191.
61. Swann J.R., Want E.J., Geier F.M. i wsp. Systemic gut microbial modulation of bile acid metabolism in host tissue compartments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010; 108: 4523–4530.
62. Thomas C., Gioiello A., Noriega L. i wsp. TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis. *Cell Metab.* 2009; 10: 167–177.
63. Pappo I., Becovier H., Berry E.M., Freund H.R. Polymyxin B reduces cecal flora, TNF production and hepatic steatosis during total parenteral nutrition in the rat. *J. Surg. Res.* 1991; 51: 106–112.
64. Cope K., Risby T., Diehl A.M. Increased gastrointestinal ethanol production in obese mice: implications for fatty liver disease pathogenesis. *Gastroenterology* 2000; 119: 1340–1347.
65. Zhu L., Baker S.S., Gill C. i wsp. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology* 2013; 57: 601–609.
66. Dumas M.E., Barton R.H., Toye A. i wsp. Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006; 103: 12511–12516.
67. Buchman A.L., Dubin M.D., Moukarzel A.A. i wsp. Choline deficiency: a cause of hepatic steatosis during parenteral nutrition that can be reversed with intravenous choline supplementation. *Hepatology* 1995; 22: 1399–1403.

68. Spencer M.D., Hamp T.J., Reid R.W. i wsp. Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency. *Gastroenterology* 2011; 140: 976–986.
69. Rivera C.A., Adegboyega P., van Rooijen N. i wsp. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol.* 2007; 47: 571–579.
70. Miele L., Valenza V., La Torre G. i wsp. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 49: 1877–1887.
71. Amar J., Chabo C., Waget A. i wsp. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanism and probiotic treatment. *EMBO Mol. Med.* 2011; 3: 559–572.
72. Cani P.D., Neyrinck A.M., Fava F. i wsp. 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.
73. Lee H. Y., Park J.H., Seok S.H. i wsp. 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: 736–744.
74. Lee K., Paek K., Lee H.Y. i wsp. Antiobesity effect of trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid-producing *Lactobacillus plantarum* PL62 on diet-induced obese mice. *J. Appl. Microbiol.* 2007; 103: 1140–1146.
75. Sato M., Uzu K., Yoshida T. i wsp. Effects of milk fermented by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 on adipocyte size in rats. *Br. J. Nutr.* 2008; 99: 1013–1017.
76. Kondo S., Xiao J.Z., Satoh T. i wsp. Antiobesity effect of *Bifidobacterium breve* strain B-3 supplementation in a mouse model with high-fat diet-induced obesity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2010; 74: 1656–1661.
77. Cano P.G., Santacruz A., Trejo F.M., Sanz Y. *Bifidobacterium* CECT 7765 improves metabolic and immunological alterations associated with obesity in high-fat diet-fed mice. *Obesity (Silver Spring)* 2013; 21: 2310–2321.
78. Chen J.J., Wang R., Li X.F., Wang R.L. *Bifidobacterium longum* supplementation improved high-fat-fed-induced metabolic syndrome and promoted intestinal Reg I gene expression. *Exp. Biol. Med.* (Maywood) 2011; 236: 823–831.
79. Tomaro-Duchesneau C., Saha S., Malhotra M. i wsp. Effect of orally administered *L. fermentum* NCIMB 5221 on markers of metabolic syndrome: an in vivo analysis using ZDF rats. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2014; 98: 115–126.
80. Wang L.X., Liu K., Gao D.W., Hao J.K. Protective effects of two *Lactobacillus plantarum* strains in hyperlipidemic mice. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19: 3150–3156.
81. Kim S.W., Park K.Y., Kim B. i wsp. *Lactobacillus rhamnosus* GG improves insulin sensitivity and reduced adiposity in high-fat diet-fed mice through enhancement of adiponectin production. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013; 431: 258–263.
82. Fåk F., Bäckhed F. *Lactobacillus reuteri* prevents diet-induced obesity, but not atherosclerosis, in a strain dependent fashion in Apoe^{-/-} mice. *PLoS One* 2012; 7 (10): e46837.
83. Takemura N., Okubo T., Sonoyama K. *Lactobacillus plantarum* strain No. 14 reduced adipocyte size in mice fed high-fat diet. *Exp. Biol. Med.* (Maywood) 2010; 235: 849–856.
84. Aronsson L., Huang Y., Parini P. i wsp. Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4). *PLoS One* 2010; 5: e13087.
85. Nerstedt A., Nilsson E.C., Ohlson K. i wsp. Administration of *Lactobacillus* evokes coordinated changes in the intestinal expression profile of genes regulating energy homeostasis and immune phenotype in mice. *Br. J. Nutr.* 2007; 97: 1117–1127.
86. Kadooka Y., Sato M., Imaizumi K. i wsp. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2010; 64: 636–643.
87. Sanchez M., Darimont C., Drapeau V. i wsp. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC1.3724 supplementation on weight loss and maintenance in obese men and women. *Br. J. Nutr.* 2014; 111: 1507–1519.
88. Kadooka Y., Sato M., Ogawa A. i wsp. Effect of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 in fermented milk on abdominal adiposity in adults in a randomised control trial. *Br. J. Nutr.* 2013; 110: 1696–1703.
89. Barreto F.M., Colado Simão A.N., Morimoto H.K. i wsp. Beneficial effects of *Lactobacillus plantarum* on glycemia and homocysteine levels in postmenopausal women with metabolic syndrome. *Nutrition* 2014; 30: 939–942.
90. Yadav H., Lee J.H., Lloyd J. i wsp. Beneficial metabolic effects of a probiotic via butyrate-induced GLP-1 hormone secretion. *J. Biol. Chem* 2013; 288: 25088–25097.
91. Roberfroid M., Gibson G.R., Hoyles L. i wsp. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *Br. J. Nutr.* 2010; 104 Suppl 2: S1–S63.
92. Neyrinck A.M., Possemiers S., Druart C. i wsp. Prebiotic effects of wheat arabinoxylan related to the increase in bifidobacteria, Roseburia and Bacteroides/Prevotella in diet-induced obese mice. *PLoS One* 2011; 6(6): e20944.
93. Parnell J.A., Reimer R.A. Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter Bacteroidetes and Firmicutes in lean and obese JCR: LA-cprats. *Br. J. Nutr.* 2012; 107: 601–613.
94. Everard A., Lazarevic V., Derrien M. i wsp. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. *Diabetes* 2011; 60: 2775–2786.
95. Cani P.D., Neyrinck A.M., Maton N., Delzenne N.M. Oligo-fructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like Peptide-1. *Obes. Res.* 2005; 13: 1000–1007.
96. Cani P.D., Daubioul C.A., Reusens B. i wsp. Involvement of endogenous glucagon-like peptide-1 (7-36) amide on glycaemia-lowering effect of oligofructose in streptozotocin-treated rats. *J. Endocrinol.* 2005; 185: 457–465.
97. Cani P.D., Possemiers S., Van de Wiele T. i wsp. 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.
98. Kellow N.J., Coughlan M.T., Reid C.M. Metabolic benefits of dietary prebiotics in human subjects: a systematic review of randomised controlled trials. *Br. J. Nutr.* 2014; 111: 1147–1161.
99. Parnell J. A., Reimer R.A. 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: 1751–1759.
100. Genta S., Cabrera W., Habib N. i wsp. Yacon syrup: beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clin. Nutr.* 2009; 28: 182–187.
101. Dewulf E.M., Cani P.D., Claus S.P. i wsp. Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind

- intervention study with insulin-type fructans in obese women. *Gut* 2013; 62: 1112–1121.
102. Sotos M., Nadal I., Marti A. i wsp. Gut microbes and obesity in adolescents. *P. Nutr. Soc.* 2008; 67: E20.
 103. Nadal I., Santacruz A., Marcos A. i wsp. Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *Int. J. Obes. (Lond)* 2009; 33: 758–767.
 104. Cotillard A., Kennedy S.P., Kong L.C. i wsp. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature* 2013; 500: 585–588.
 105. Zhang H., DiBaise J.K., Zuccolo A. i wsp. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009; 106: 2365–2370.
 106. Li J.V., Ashrafian H., Bueter M. i wsp. Metabolic surgery profoundly influences gut microbial-host metabolic cross-talk. *Gut* 2011; 60: 1214–1223.
 107. Lips M.A., de Groot G. H., van Klinken J.B. i wsp. Calorie restriction is a major determinant of the short-term metabolic effects of gastric bypass surgery in obese type 2 diabetic patients. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2014; 80: 834–842.
 108. Ostrowska L., Marlicz W., Łoniewski I. Transplantacja mikroflory jelitowej w leczeniu otyłości i zaburzeń metabolicznych — metoda nadal ryzykowna i niepotwierdzona wynikami badań klinicznych. *Forum Zaburzeń Metabolicznych* 2013; 4: 161–169.
 109. Dror T., Dickstein Y., Dubourg G., Paul M. Microbiota manipulation for weight change. *Microb. Pathog.* 2016 [ahead of print].
 110. Gobel R.J., Larsen N., Jakobsen M. i wsp. Probiotics to adolescents with obesity: effects on inflammation and metabolic syndrome. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2012; 55: 673–678.
 111. Lee S.J., Bose S., Seo J.G. i wsp. The effects of co-administration of probiotics with herbal medicine on obesity, metabolic endotoxemia and dysbiosis: a randomized double-blind controlled clinical trial. *Clin. Nutr.* 2014; 33: 973–981.