

Patrycja Pokrzywnicka, Janusz Gumprecht

¹Szpital Miejski w Zabrze

²Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Zabrze

Mikrobiota i jej związek z cukrzycą typu 2 i otyłością

Intestinal microbiota and its relationship with diabetes and obesity

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Pokrzywnicka P, Gumprecht J. Intestinal microbiota and its relationship with diabetes and obesity. Clin Diabetol 2016; 5, 5: 164–172. DOI: 10.5603/DK.2016.0029.

Należy cytować wersję pierwotną.

STRESZCZENIE

Wzrastająca liczba ludzi otyłych i z cukrzycą typu 2 to jeden z głównych problemów zdrowotnych naszych czasów. Powszechnie znane przyczyny to nadmiar pokarmu w stosunku do potrzeb energetycznych organizmu (zmiany stylu życia i nawyków żywieniowych), uwarunkowania genetyczne, zaburzenia endokrynologiczne, przyjmowane leki. Jednak według ostatnich doniesień dość znaczącą rolę w etiologii tych schorzeń odgrywa również mikroflora jelitowa. To, że mikroflora jelitowa może wpływać na masę ciała, wrażliwość na insulinę czy też metabolizm cukrów i lipidów, doprowadziło do wysunięcia hipotezy, że zmiany w jej obrębie mogą się przyczynić do patogenezы otyłości i cukrzycy. W związku z tym jednocześnie próby jej modyfikacji mogą się przyczynić do zmniejszenia lub ograniczenia nasilenia objawów wymienionych schorzeń. Mikrobiota jelitowa to obecnie jeden z najbardziej rozwijających się tematów badawczych. Wiele światowych projektów naukowych, w tym MetaHIT (UE i Chiny), MicroBES (Francja), *Human Microbiome Project* — HMP (USA), skupia się na badaniu roli bakterii jelitowych dla zdrowia człowieka. Naukowców szczególnie interesuje możliwość modyfikacji mikroorganizmów jelitowych w celu leczenia lub prewencji wielu dolegliwości, w tym otyłości i pozostałych chorób cywilizacyjnych.

Słowa kluczowe: otyłość, mikrobiota, cukrzyca, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, prebiotyki, probiotyki

Adres do korespondencji:
lek. Patrycja Pokrzywnicka
Szpital Miejski w Zabrze
e-mail: patpok2510@gmail.com
Nadesłano: 28.09.2016

Przyjęto do druku: 20.11.2016

ABSTRACT

The number of people who are obese and who suffer from type 2 diabetes is one of the most prominent health problems of our time. Among commonly known reasons we may distinguish excess of food in relation to how much food energy our organism really needs (change in life style and diet), genetic predisposition, endocrine disorders, and use of medicines. However, according to latest reports, intestinal flora plays a significant part in aetiology of these medical conditions. The fact that intestinal microflora may affect body weight, sensitivity to insulin, metabolism of sugars and lipids leads to a conclusion that any change within intestinal microflora may be the reason for pathogenesis of obesity and diabetes. Moreover, any attempt to modify it may cause decrease or limitation of the intensity of the medical conditions mentioned above. Intestinal microbiota is now one of the most developing subjects for research. Many of the world's medical projects including MetaHIT (UE and China), MicroBES (France), *Human Microbiome Project* — HMP (USA) focus on research on the role of intestinal bacteria for people's health. Scientists are particularly interested in the possibility of modification of the intestinal microorganisms in order to treat or prevent many conditions including obesity and other diseases of affluence.

Key words: obesity, intestinal microbiota, diabetes mellitus, short chain fatty acids, prebiotics, probiotics

Mikrobiom — kolejny organ człowieka

Przewód pokarmowy człowieka, a w szczególności jelito grube, jest zasiedlony przez szereg drobnoustrojów. Ogólną ich masę szacuje się na około 1,5 kg, a sam genom mikrobioty stanowi nawet 100 razy większą liczbę genów niż genom człowieka. Do niedawna mówiono, iż liczba mikroorganizmów przewyższa 10-krotnie liczbę komórek ciała człowieka, najnowsze badania wskazują jednak na zawyżenie tych szacunków. Ten mocno upakowany ekosystem stanowi potencjał metaboliczny porównywalny z liczbą przeprowadzanych procesów w wątrobie. Rola, jaką te drobnoustroje odgrywają w utrzymaniu zdrowia, jest olbrzymia, a jednak stale odkrywana. Większość, czyli 94–98% wszystkich wyizolowanych drobnoustrojów, należy do czterech podstawowych grup bakterii: *Firmicutes* (64%), *Bacteroidetes* (23%), *Proteobacteria* (8%) i *Actinobacteria* (3%). Pozostałe, choć nieliczne, stanowią bardzo zróżnicowaną taksonomicznie zbiorowość [1–3]. Ilość bakterii oraz ich funkcje różnią się w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego. Zależą od wielu czynników takich, jak pH środowiska, dostępności tlenu czy — jak się okazuje — również rodzaju pożywienia. Znaczenie rozmaitych funkcji ekosystemu sprawia, że niemożliwe jest życie człowieka bez zasiedlających go mikroorganizmów. Stąd stwierdzenie, że mikrobiom to odrębny organ człowieka. Skład flory przewodu pokarmowego jest inny u każdego człowieka — niepowtarzalny jak linie papilarne i możliwy do określenia, dotąd niedoskonałe, w badaniach molekularnych. Co ważne, typowe badania mikrobiologiczne, polegające na hodowlach *in vitro*, nie mają w tym przypadku praktycznie żadnego zastosowania. Tworzone „biblioteki klonów”, identyfikacje DNA, ostatecznie powstające drzewa filogenetyczne jedynie potwierdzają złożoność problemu [4].

Powstawanie mikroflory jelitowej

Przewód pokarmowy płodu jest jałowy, a pierwsza kolonizacja rozpoczyna się w czasie porodu. W istotny sposób wpływa na to rodzaj rozwiązania. Kontakt dziecka z florą bakteryjną pochwy matki, znajdującymi się w jej kale bakteriami oraz drobnoustrojami napotkanymi w środowisku tuż po opuszczeniu organizmu matki bądź też ich brak przy cięciu cesarskim decyduje o pierwszych nabytych drobnoustrojach. Intensywny etap rozwoju kolonii bakteryjnych trwa do około 2. roku życia [5]. I tak, w jelitach dzieci urodzonych drogami natury natychmiast pojawiają się bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. U dzieci urodzonych przez cesarskie cięcie te same drobnoustroje pojawiają się w jelicie dopiero po upływie około 30 dni [6]. Innym czynnikiem kształtującym mikroflorę jelitową niemowląt jest dieta, rodzaj

spożywanego mleka. Wykazano, że u niemowląt karmionych mlekiem matki bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* pojawiają się wcześniej niż u dzieci karmionych mlekiem syntetycznym. Produkując kwas octowy i mlekowy, działają już ochraniająco przed patogennymi szczepami. Zasiedlenie bakteryjne zależy także od wielu innych czynników, w tym poziomu higieny oraz przyjmowanych leków [6]. W badaniu bliźniąt dwujajowych stwierdzono duże podobieństwo w składzie mikroflory jelitowej tuż po porodzie oraz analogiczne jej zmiany w ciągu życia, co potwierdza, że głównymi elementami odpowiadającymi za jej skład mogą być czynniki genetyczne i środowiskowe [7]. Zmienność mikroflory w trakcie życia pozwala stworzyć profile mikrobiologiczne flory jelitowej dla niemowląt i dorosłych. Mikroflora noworodków składa się w większości z bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* oraz rodziny *Enterobacteriaceae*. W skład flory jelit dorosłych wchodzi głównie bakterie należące do dwóch typów: *Bacteroidetes* i *Firmicutes*.

Wpływ różnych czynników na skład mikroflory jelitowej

Wpływ stosowanej diety na skład i proporcje mikrobioty wykazano w badaniu De Filippo i wsp. porównującym afrykańskie dzieci w wieku 1–6 lat z dziećmi Europy zachodniej z okolic Florencji. Różnice ilościowe w składzie mikroflory — liczebności bakterii typu *Bacteroidetes* do liczebności *Firmicutes* i *Proteobacteria* — były znaczącą podstawową różnicą wykazaną we wnioskach. Naukowcy stwierdzili, że flora jelitowa dzieci pochodzących z leżącego w Afryce Burkina Faso, gdzie dieta była uboga w mięso a zawierała dużo błonnika, warzyw i skrobi, w porównaniu z dziećmi karmionymi dietą zachodnią, które spożywały głównie mięso, dużo tłuszczów zwierzęcych i cukrów prostych, zawierała znacznie więcej bakterii typu *Bacteroidetes* oraz odpowiednio mniej bakterii należących do *Firmicutes*. Jednocześnie w próbkach kału dzieci z Afryki stwierdzono obecność bakterii z rodzaju *Prevotella* i *Xylanibacter* — drobnoustrojów zdolnych do wytwarzania enzymów hydrolizujących celulozę i ksylan oraz większą zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA, *short chain fatty acids*), będących dodatkowym źródłem energii. Naukowcy na tej podstawie wykazali, że dieta ma ścisły związek ze składem mikroflory, a poszczególne drobnoustroje flory pojawiają się w niej w zależności od składu spożywanych pokarmów [8]. Konsekwencją różnicy proporcji bakterii jest również wykazana w tym badaniu różnica w ilości i jakości wytwarzanych przez bakterie produktów ich metabolizmu SCFA. Opisaną wyżej zależność potwierdzają badania mikroflory jelitowej osób odżywiających się dietą we-

getariańską. Wykazano u nich spadek liczebności oraz zmiany różnorodności bakterii z rodzaju *Clostridium* oraz wzrost liczebności *Bacteroidetes* [9]. Jednak zdania są podzielone i nie we wszystkich badaniach wykazano podobne zależności. Ley i wsp. stwierdzili identyczną liczebność *Bacteroidetes* i *Firmicutes* u osób otyłych odżywiających się wysokotłuszczową dietą oraz po zmianie diety na niskokaloryczną [10]. Pojawiły się też badania sugerujące zupełny brak powiązań stosunków *Bacteroidetes/Firmicutes* z dietą i wskaźnikiem masy ciała (BMI, *body mass index*) [11]. Temat, ciągle żywy i rozwijający się, wymaga wielu badań i analiz, uwzględniających wszystkie możliwe czynniki wpływające na wiarygodność wyników [12]. Na skład mikroflory jelitowej poza dietą mają wpływ także: genotyp, wiek, płeć oraz warunki środowiskowe. Mikroflora jelitowa ulega zmianie wraz z wiekiem, co wykazano, porównując florę dzieci, osób dorosłych i w podeszłym wieku [13, 14]. U noworodków przeważają bakterie z rodzaju *Bifidobacterium*, ale w ciągu życia flora ulega dynamicznym zmianom, tworząc ostatecznie bardzo złożony ekosystem [7]. Porównanie flory jelitowej młodzieży i osób dorosłych wykazało zwiększoną zawartość *Bifidobacterium* i *Clostridium* w mikroflorze młodzieży [20]. U osób starszych obserwuje się zwiększoną liczebność bakterii z rodzaju *Bacteroidetes* i mniejszą różnorodność drobnoustrojów [16].

Funkcje mikrobioty jelit

Funkcje mikrobioty można podzielić na trzy rodzaje:

- troficzną — mikroflora istotnie wpływa na proliferację i różnicowanie nabłonka okrężnicy oraz proliferację śródnabłonkowych limfocytów, ma też znaczenie w jelicie cienkim, oddziałując na rozwój enterocytów. Enterocyty to komórki odpowiedzialne za wchłanianie substancji w obrębie jelita cienkiego. Na obszarach z dużą liczbą bakterii obserwuje się zwiększoną liczbę i długość kosmków jelitowych w porównaniu z regionami mniej licznie zasiedlonymi. Zależność ta potwierdza hipotezę o dodatnim wpływie mikroflory jelitowej na dojrzewanie enterocytów;
- ochronną — mikroflora tworzy barierę przed kolonizacją przez bakterie patogenne. Stymuluje produkcję substancji hamujących adhezję patogenów do nabłonka jelit, obniża również pH treści przez produkcję kwasów organicznych;
- metaboliczną (najszerzej omawianą w niniejszym artykule) — tu największe znaczenie przypisuje się rozkładowi resztek pokarmowych na drodze fermentacji z wytworzeniem kwasów tłuszczowych,

ponadto przy udziale mikroflory zachodzi synteza witamin B i K oraz zwiększa się przyswajalność składników mineralnych.

Funkcje mikrobioty podsumowane powyżej wiążą się zarówno z układem pokarmowym, jak i immunologicznym. Enterotyp odpowiada też za prawidłowy przebieg i regulację wielu procesów metabolicznych, a upośledzenie funkcji może prowadzić do problemów w utrzymaniu homeostazy organizmu [17]. Enterotyp decyduje o produktach metabolizmu, które potem mają korzystny lub szkodliwy wpływ na organizm [18]. Kolejną istotną rolą mikroflory jest jej wpływ na budowę końcowego odcinka przewodu pokarmowego. Oddziałuje ona także na funkcje motoryczne jelit [16]. Jaki zatem skład flory byłby najbardziej odpowiedni, by zachować proporcje przemian metabolicznych? Wydaje się, że podstawowym kryterium jest różnorodność sprzyjająca przemianom metabolicznym.

Dysbioza

Powyżej udowodniono, że wiele czynników może prowadzić do zaburzeń składu mikroflory i wywoływać dysbiozę. Najważniejsze to dieta bogatotłuszczowa, wysokobiałkowa [19]. Inne przyczyny dysbiozy to stosowanie leków: antybiotyków, inhibitorów pompy protonowej, niesteroidowych leków przeciwzapalnych, żelaza, metotreksatu, metforminy. Poza tym przewlekły stres czy zakażenia przewodu pokarmowego są przyczynami zaburzeń stosunków dwóch głównych szczepów *Bacteroides* i *Firmicutes* [20].

U osób z nadwagą występuje zaburzenie stosunku *Bacteroidetes/Firmicutes* [17]. Dieta bogatobiałkowa i ubogowęglowodanowa prowadzi do niedoboru bifidobakterii [18]. U osób otyłych w przewodzie pokarmowym zaczyna dominować rodzaj bakterii gram-dodatnich, *Mollicutes*, które bardzo wydajnie pozyskują energię z pożywienia.

Homeostaza energetyczna i magazynowanie tłuszczu a mikrobiota

Wpływ mikroflory jelitowej na homeostazę energetyczną i magazynowanie tłuszczu w organizmie gospodarza nadal jest słabo poznany. Szlaki metaboliczne ulegają pobudzeniu bądź przyhamowaniu, korelując jednocześnie ze zmianami w ilości czy jakości enterotypu bakteryjnego. Wykonano badanie, które pokazało, że podawanie antybiotyków — norfloksacyliny i ampicyliny — myszom spowodowało zmiany w składzie mikroflory jelitowej, a przy tym poprawę glikemii na czczo, tolerancji glukozy oraz wrażliwości komórek na insulinę w porównaniu z grupą kontrolną, nieprzyjmującą antybiotyku [21].

Jelito przesiąkliwe

Dysbioza prowadzi między innymi do zaburzeń prawidłowej struktury i funkcji bariery jelitowej, tworząc tzw. jelito przesiąkliwe. Uszkodzenie bariery powoduje przenikanie do organizmu mikroorganizmów i ich metabolitów, wywołując przewlekły stan zapalny. Połączenia ściśle (*tight junctions*), szczelinowate (*gap junctions*) oraz desmosomy zapewniają integralność enterocytów. Dysbioza upośledza syntezę zonuliny 1 i okludyny — ważnych elementów połączeń ścisłych, powodując funkcjonalne uszkodzenie integralności błony śluzowej i przesiąkanie przez nią wielu szkodliwych substancji i antygenów. Oprócz SCFA do organizmu dostaje się również bardzo toksyczny lipopolisacharyd bakteryjny (LPS, *lipopolysaccharide*). Jest to endotoksyna będąca składnikiem zewnętrznej błony komórkowej osłony bakterii gram-ujemnych i cyjanobakterii bytujących w przewodzie pokarmowym [22].

Rozwojowi otyłości towarzyszy układowa reakcja zapalna. Stan zapalny wiąże się z uwalnianiem zarówno przez makrofagi, jak i adipocyty czynnika martwicy nowotworu (TNF-alfa, *tumor necrosis factor alpha*) oraz interleukiny 6 (IL-6). Stan zapalny w błonie śluzowej jelita powoduje utratę szczelności bariery jelitowej, co zwiększa przepuszczalność ściany jelita dla bakterii, LPS i innych cząstek bakteryjnych [28].

W ostatnim czasie mówi się również o roli przepuszczalności bariery jelitowej w stosunku do białek pokarmowych i możliwości wywoływania tzw. alergii IgG-zależnej, której skutkiem może być otyłość i choroby metaboliczne [23]. Niektóre badania sugerują możliwość patologicznego wpływu przeciwciał IgG i w konsekwencji przewlekłego stanu zapalnego w organizmie na rozwój otyłości.

Mikroflora jelitowa, dzięki syntezie i wydzielaniu wielu związków chemicznych, może wpływać na podwojenie gęstości naczyń włosowatych w nabłonku jelita cienkiego, co skutkuje zwiększonym wchłanianiem monosacharydów w tym odcinku przewodu pokarmowego [24].

Bakterie jelitowe syntetyzują hydrolazy glikozydowe — enzymy niezbędne do rozkładania złożonych roślinnych polisacharydów (skrobia, celuloza, pektyna, ksylan, inulina) wchodzących w skład spożywanych produktów, a nietrawionych przez enzymy organizmu ludzkiego [25]. Dzięki symbiozie człowieka i bakterii jelitowych możliwe jest pozyskiwanie energii ze związków nierozkładanych przez enzymy trawienne, które w wyniku fermentacji przeprowadzanej przez mikroflorę dostają się do krwiobiegu — SCFA. Dziennie można w ten sposób dostarczyć 80–200 kcal, czyli około 4–10% dziennego zapotrzebowania osoby dorosłej [26]. Choć wydaje się to znikomą wartością, długofalowo może w znaczący sposób wpłynąć na

masę ciała. Głównymi związkami pozyskiwanymi dzięki wspomnianej wyżej symbiozie są SCFA, do których należą m.in. octan, propionian i maślan, przy czym kwas octowy jest dominującym typem SCFA [27]. Jednym z SCFA stanowiącym źródło energii dla organizmu jest kwas propionowy, który może być wykorzystywany w procesie syntezy glukozy i lipidów [28].

Funkcje metaboliczne SCFA są istotne w homeostazie energetycznej organizmu i znaczące w rozwoju otyłości i cukrzycy typu 2: SCFA aktywują receptor wiążący białko G 41 (GPR41, *G protein-coupled receptor 41*), stymulując wydzielanie peptydu YY — PYY (*peptide YY*) [29]. Peptyd YY jest hormonem, który spowalnia pasaż jelitowy, a przez to zwiększa wchłanianie składników odżywczych, pozyskiwanie energii. Jego działanie jest obecnie intensywnie badane, gdyż może wpływać na rozwój otyłości [19]. Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe pełnią też funkcję cząsteczek sygnałowych. Kwasy propionowy, octowy i maślowy są ligandami dla receptorów sprzężonych z białkami G: GPR41 oraz GPR43, należącymi do grupy receptorów komórkowych GPCRs. Oba to receptory nabłonkowe. Przeprowadzone badania sugerują, że GPR41 jest regulatorem równowagi energetycznej organizmu przez oddziaływanie z metabolitami wytwarzanymi przez mikroflorę. Receptor wiążący białko G 43 (GPR43) proponuje się jako „molekularny łącznik” pomiędzy dietą, mikroflorą przewodu pokarmowego, odpornością oraz odpowiedzią zapalną. Wykazano, że myszy pozbawione receptorów GPR41 i GPR43 są chudsze niż ich dzikie odpowiedniki [16].

Stymulacja przez kwas maślowy wytwarzania leptyny w adipocytach i indukcja wydzielania glukagonopodobnego peptydu 1 (GLP-1, *glucagon-like peptide 1*) przez komórki L jelita [30], a także nasilenie procesu termogenezy, wzrost utleniania kwasów tłuszczowych oraz aktywności mitochondriów w obrębie mięśni i brunatnej tkanki tłuszczowej [31] to kolejne przykłady wpływu na metabolizm gospodarza.

Role kwasów są jednak niejednoznaczne i zmieniają się w zależności od zastanych warunków. Kwas maślowy może wykazywać działanie przeciwzapalne, zmniejszając uwalnianie cytokin i chemokin [30]. W badaniu u otyłych myszy będących na diecie wysokotłuszczowej wzbogaconej o maślan zaobserwowano zahamowanie, a nawet cofnięcie się insulinooporności [31]. W innym badaniu stwierdzono zaś, że spożywanie diety o niskiej zawartości węglowodanów skutkuje obniżonym stężeniem kwasu maślowego w próbkach kału oraz zmniejszeniem liczby bakterii, które go wytwarzają [32]. Na podstawie tych informacji można wysunąć hipotezę, że maślan korzystnie wpływa na metabolizm w stanach patologicznych, natomiast nie odgrywa większej roli w warunkach prawidłowych [12].

Powstawaniu otyłości i magazynowaniu tłuszczu sprzyja zmniejszenie ekspresji czynnika tkankowego indukowanego głodem (FIAF, *fasting induced adipocyte factor*). Czynnikiem ten, znany także pod nazwą białka podobnego do angiopoetyny 4, hamuje działanie lipazy lipoproteinowej (LPL, *lipoprotein lipase*) — enzymu odpowiedzialnego za magazynowanie energii w postaci tłuszczu. Czynnikiem tkankowym indukowany głodem ułatwia uwalnianie kwasów tłuszczowych ze związanych z lipoproteinami triglicerydów, więc jego obniżona ekspresja prowadzi do zwiększenia aktywności LPL w komórkach tłuszczowych i nasilenia procesu magazynowania energii.

Mikroflora jelitowa może również wpływać na metabolizm lipidów gospodarza, hamując aktywność kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (AMPK, *adenosine monophosphate activated protein kinase*) [33], która jest enzymem kontrolującym status energetyczny na poziomie komórkowym [34]. Myszy *germ-free* (GF — tzw. myszy jałowego środowiska), mimo karmienia zgodnego z dietą zachodnią zawierającą duże ilości cukrów i tłuszczów, nie wykazują otyłości. Taki stan możliwy jest dzięki dużej aktywności ufosforylowanej postaci AMPK w wątrobie i mięśniach szkieletowych tych zwierząt, a więc wysokiej wydajności utleniania kwasów tłuszczowych w obu tych organach [33]. Aktywna AMPK fosforyluje karboksylazę acetylo-CoA, co prowadzi do spadku stężenia malonylo-CoA. Związek ten hamuje palmitoilotransferazę karnitynową — enzymem związany z przenoszeniem długołańcuchowych kwasów tłuszczowych do mitochondriów. Skutkiem tego jest aktywacja procesu utleniania kwasów tłuszczowych [16].

Kwasy żółciowe

Okazało się, że mikroflora jelitowa wpływa na syntezę kwasów żółciowych i ich przemiany w organizmie. Kwasy żółciowe mogą aktywować szlaki sygnałowe zarówno poprzez receptory jądrowe, jak i opisane wcześniej GPCRs, czyli receptory znajdujące się na powierzchni komórki. FXR (*farnesoid X receptor*) był pierwszym zidentyfikowanym receptorem jądrowym, aktywowanym przez kwasy żółciowe. We krwi myszy pozbawionych tego receptora (FXR^{-/-}) obserwuje się podwyższone stężenia triglicerydów i glukozy. Wskazuje to na fakt, że może on brać udział w szlakach metabolizmu glukozy i lipidów [35, 36]. Aktywacja zaś przez kwasy żółciowe receptora TGR5 (błonowy receptor, w brunatnej tkance tłuszczowej i jelicie cienkim) prowadzi do wzmożonego zużycia energii w tych tkankach [37], a więc może zapobiegać powstawaniu insulinooporności i otyłości.

Zmiany w mikroflorze jelitowej towarzyszące otyłości

W badaniach przeprowadzonych na myszach *germ-free*, którym przeszczepiono odpowiednio bakterie jelitowe otyłych myszy oraz myszy o prawidłowej masie ciała, dowiedziono istnienie związku pomiędzy mikroflorą jelitową a otyłością. Stosując tę samą dietę w obu grupach, stwierdzono, że myszy GF z mikroflorą przeszczepioną od myszy z nadmierną masą ciała także stały się otyłe [38]. Obserwacje osób w jednolitej populacji, które mimo stosowania podobnej diety były bardziej lub mniej narażone na przyrost masy ciała i rozwój zaburzeń metabolicznych, skłoniły do przyjrzenia się również związkowi mikrobioty jelitowej z etiologią otyłości [39, 40]. Dominacja dwóch typów, a w zasadzie ich proporcji, to wniosek powtarzający się w wielu badaniach.

U osób otyłych wykazano zaburzony stosunek bakterii typu *Bacteroidetes* do *Firmicutes* na korzyść tych ostatnich. Redukcja masy ciała wiąże się zaś z proporcjonalnym do liczby utraconych kilogramów wzrostem liczby bakterii typu *Bacteroidetes* [41]. Udowodniono, że 20-procentowy wzrost liczby *Firmicutes* i analogiczny spadek liczby *Bacteroidetes* odpowiadają za zwiększenie o 150 kcal poboru energii z pożywieniem [42]. Co więcej, na skutek operacji bariatrycznej (RYGB, *Roux-en-Y gastric bypass* — zespolenie omijające żołądkowo-jelitowe z pętlą Roux-en-Y), prowadzącej do zmniejszenia masy ciała u osób otyłych, badacze zaobserwowali u nich wzrost liczebności *Bacteroidetes*. W tym miejscu po raz kolejny trzeba jednak wspomnieć, że nie wszystkie badania potwierdzają tak intensywny udział mikrobioty jelitowej w patogenezie otyłości. W niektórych publikacjach mówi się o braku korelacji pomiędzy bakteriami z grupy *Bacteroidetes* i *Firmicutes* a masą ciała [26]. Nie jest do końca pewne, czy zmiany w składzie mikrobioty u otyłych osobników są skutkiem, czy przyczyną otyłości i z pewnością wymaga to dalszych badań. W kolejnym z eksperymentów badacze porównali zmodyfikowane genetycznie, pozbawione leptyny, otyłe myszy (ob/ob) i myszy chude (ob/+ i +/+) [43]. Jako element różnicujący wybrano leptynę, ponieważ jest ona czynnikiem regulującym łaknienie [44]. Stwierdzono, że drobnoustroje bytujące w jelitach myszy ob/ob mają enzymy, dzięki którym możliwy jest rozkład niemożliwych do strawienia w inny sposób polisacharydów, będących częścią pożywienia. Analiza stolców otyłych osobników wykazała ponadto większą ilość końcowych produktów fermentacji, takich jak kwas octowy i masłowy, oraz mniejszą zawartość kalorii. Dodatkowo zauważono, że u myszy, które są podatne na wystąpienie insulinooporności oraz stłuszczeniowego

zapalenia wątroby, jednego z najczęstszych powikłań dotyczących osób otyłych, obserwuje się nieprawidłowe stężenie metabolitów związanych z przemianami fosfatylocholino we krwi i w moczu. Karmienie myszy dietą wysokotłuszczową powoduje, że ich mikroflora zaczyna przekształcać pochodzącą z pożywienia cholinę w hepatotoksyczne metyloaminy. Cholina jest niezbędna do wydzielania lipoproteiny o bardzo małej gęstości (VLDL, *very low density lipoprotein*), która jest syntetyzowana w wątrobie, a jej główną funkcją jest transport lipidów z wątroby do komórek tłuszczowych — adipocytów. Zmniejszając biodostępność choliny, mikroflora jelitowa może uczestniczyć w patogenezie insulinooporności oraz stłuszczeniowego zapalenia wątroby. Może także inicjować peroksydację lipidów w obrębie organizmu gospodarza [45]. Inną różnicą obserwowaną w mikroflorze otyłych osobników jest wzrost liczby bakterii metanogennych, które usuwając szkodliwy nadmiar H₂ ze środowiska, usprawniają procesy fermentacyjne przeprowadzane przez bakterie [43].

Dysbioza, otyłość, insulinooporność oraz rozwój cukrzycy typu 2 wiążą się z przewlekłym ogólnoustrojowym stanem zapalnym dotyczącym tkanki tłuszczowej. Bakterie Gram-ujemne zawierają LPS (wyżej opisany) oraz peptydoglikany o właściwościach prozapalnych. Kolonizacja myszy *germ-free* bakteriami *Escherichia coli* powoduje zwiększoną infiltrację tkanki tłuszczowej makrofagami oraz nasilone wydzielanie cytokinin. Dieta bogata w tłuszcze przyczynia się do wzrostu stężenia LPS w surowicy krwi u ludzi [46, 47]. Lipopolisacharyd dostaje się do krwi w chylomikronach lub według drugiej teorii w wyniku zwiększonej przepuszczalności jelit [48].

Cząsteczki LPS wykazują powinowactwo do receptora Toll-podobnego 4 (TLR4, *Toll-like receptor 4*). Jest to receptor rozpoznający wzorce molekularne PRR (*pattern recognition receptor*), które wiążą się z cząsteczkami mikroorganizmów. Należą one do układu odporności wrodzonej, a ich pobudzenie aktywuje kaskadę sygnałów prozapalnych [49, 50].

Stężenie LPS, będącego przykładem PAMP (*pathogen-associated molecular patterns*), jest stale monitorowane z udziałem TLR4 [50]. U szczurów podatnych na wystąpienie otyłości obserwowano zwiększoną przepuszczalność jelit oraz podwyższone stężenie LPS we krwi [16]. Zwiększoną przepuszczalność jelit stwierdzono też u myszy karmionych dietą wysokotłuszczową [51]. Reasumując, podwyższony poziom PAMP i aktywacja PRR prowadzą do indukcji stanu zapalnego, a to z kolei wiąże się z rozwojem zaburzeń metabolicznych, takich jak oporność tkanek na insulinę czy choroby układu sercowo-naczyniowego.

Mikroflora jelitowa w cukrzycy typu 2

Przeprowadza się wiele analiz dotyczących korelacji między składem mikroflory jelitowej a występowaniem cukrzycy typu 2. Uważa się, że w przypadku cukrzycy typu 2 zarówno insulinooporność, jak i dysfunkcja komórek beta wytwarzających insulinę powstają w wyniku współdziałania wielu czynników środowiskowych i genetycznych. Wykazano również pewną zależność jakości mikroflory. W badaniu, w którym wzięło udział 30 osób otyłych, w tym 7 chorych na cukrzycę typu 2, u tych właśnie chorych stwierdzono obniżenie liczebności *Faecalibacterium prausnitzii* — bakterii prawidłowo występujących w mikroflorze jelit, należących do typu *Firmicutes*. W badanej grupie przeprowadzono zabieg bariatryczny, po którym u chorych na cukrzycę typu 2 liczebność *F. prausnitzii* wzrosła, ale pozostała niższa niż u osób bez cukrzycy. Równocześnie stwierdzano także obniżone stężenia glukozy, insuliny i hemoglobiny glikowanej we krwi badanych oraz mniejszą oporność komórek na insulinę, szacowaną na podstawie wyniku testu HOMA-IR (*homeostasis model assessment of insulin resistance*). Dodatkowo zanotowano również zmniejszenie stężenia markerów stanu zapalnego, tj. białka C-reaktywnego (CRP, *C-reactive protein*) i IL-6 [52]. Kolejne badanie również dotyczy szczepu *Firmicutes*. Larsen i wsp. przeprowadzili badanie, w którym wzięło udział 36 osób, 18 z nich cierpiało na cukrzycę typu 2. Byli to zarówno pacjenci o prawidłowej masie ciała, jak i otyli. W jelitach chorych na cukrzycę typu 2 wykazano zmniejszenie liczebności *Firmicutes* i *Clostridia*. Zauważono też, że stosunek *Bacteroidetes* do *Firmicutes* jest skorelowany ze stężeniem glukozy w osoczu krwi, podobnie jak w doświadczeniu opisywanym powyżej, tu jednak bez powiązania ze wskaźnikiem masy ciała (BMI, *body mass index*), co wymaga na pewno dalszych analiz [53]. Stosunek *Bacteroidetes* do *Firmicutes*, czyli bakterii Gram-ujemnych do Gram-dodatnich, u osób, które cierpią jednocześnie na otyłość i cukrzycę typu 2, nie jest w pełni jednoznaczny, ale wykazano dodatni związek między zawartością LPS w osoczu krwi myszy a przyrostem masy ciała, akumulacją triglicerydów, insulinoopornością oraz cukrzycą typu 2. Lipopolisacharyd, opisany powyżej składnik błon komórkowych bakterii Gram-ujemnych, może brać udział w rozwoju stanu zapalnego towarzyszącego cukrzycy typu 2. Potwierdzeniem wyników badań przeprowadzonych na zwierzętach były oznaczenia LPS w osoczu ludzi zdrowych i chorych na cukrzycę typu 2. Wykazano wyższe stężenie LPS u chorych na cukrzycę niż u osób zdrowych. Istnienie tej zależności może sugerować, że LPS bierze udział w patogenezie cukrzycy typu 2 [54]. Idąc dalej, podanie szczurom polimyksyny B powo-

duże spadki zawartości LPS w osoczu krwi, zmniejsza częstość występowania stłuszczeniowego zapalenia wątroby oraz innych wyżej wymienionych schorzeń.

Czy dostępne wyniki badań pozwalają opracować konkretne koncepcje wspierające leczenie otyłości czy cukrzycy za pomocą ingerencji w mikroflorę pacjenta? Czy zmiany w ekosystemie jelit mogłyby stanowić element terapii otyłości i zapobiegania cukrzycy typu 2? Mimo że dokładna rola mikroorganizmów wchodzących w skład mikroflory jelitowej wciąż jest w trakcie badań, to zgromadzone dotychczas informacje pozwalają na rozpoczęcie badań mających na celu wprowadzanie zmian w obrębie ekosystemu jelit i wykorzystanie ich jako elementu terapii. Aktualnie znane narzędzia farmakologiczne to leki przeciwbakteryjne, prebiotyki i probiotyki. Ich celowane zastosowanie zmienia skutecznie skład mikroflory jelitowej i przynajmniej częściowo pozwala na zapobieganie lub leczenie chorób metabolicznych.

Leki przeciwbakteryjne

Wykazano, że leczenie przeciwbakteryjne zmniejsza zachorowalność i opóźnia wystąpienie cukrzycy typu 1. Brugman i wsp. przeprowadzili badanie na szczurzych modelach cukrzycy typu 1 — BB-DP (*Bio-breeding diabetes prone*). Mikroflora jelitowa szczurów, które nie zachorowały na cukrzycę typu 1, charakteryzowała się obniżoną zawartością bakterii należących do *Bacteroidetes*. Następnie badacze analizowali wpływ antybiotykoterapii na częstość występowania cukrzycy typu 1. Podawanie antybiotyków szczurom BB-DP prowadziło do zmian w ich mikroflorze jelitowej oraz zmniejszało częstość występowania cukrzycy typu 1 lub opóźniało pojawienie się jej objawów. Uzyskane wyniki sugerują, że mikroflora jelitowa może brać udział w patogenezie cukrzycy typu 1. Co więcej, czynniki, które mogą modyfikować skład flory jelit, np. analizowane antybiotyki, mogą się stać elementem interwencji terapeutycznej [55]. Także w przypadku cukrzycy typu 2 (myszy ob/ob) podawanie antybiotyków (norfloksacyny i ampicyliny) prowadziło do znacznej poprawy tolerancji glukozy. U zwierząt tych obserwowano: obniżone stężenie triglicerydów w wątrobie oraz LPS we krwi, a także zwiększoną ilość glikogenu w wątrobie oraz adiponektyny we krwi.

Prebiotyki

Prebiotyki to nieulegające trawieniu związki chemiczne, takie jak fruktooligosacharydy i inulina, które stymulując wzrost i aktywność jelitowych szczepów bakterii, stanowią również źródło energii dla komórek nabłonka jelitowego oraz bakterii probiotycznych przewodu pokarmowego. Przyspieszają one wzrost

pożytecznych grup organizmów komensalnych, takich jak np. *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. Badania z oligofruktozą prowadzą do bardzo ciekawych praktycznych wniosków. W pierwszym z nich wykazano, że oligofruktoza dodana do diety wysokotłuszczowej zwiększa stężenie insuliny, obniża stężenie glukozy we krwi, zmniejsza ilość uzyskiwanej energii, przyrost masy ciała. Należy zaznaczyć, że osiągnęto to dzięki zwiększonemu stężeniu inkretyn — hormonów jelitowych, które wpływają na popoślukowe wydzielanie insuliny przez komórki β wysp trzustkowych, a więc w sposób pośredni biorą udział w regulacji łaknienia i masy ciała [56, 57]. W innym badaniu wykazano dodatnią korelację między kolonizacją *Bifidobacterium* a lepszą tolerancją glukozy, wydzielaniem insuliny pod wpływem zwiększonego stężenia glukozy oraz normalizacją stężenia czynników prozapalnych [58].

Zaobserwowano redukcję wchłaniania tłuszczu u osób, które spożywały pokarm z dodatkiem prebiotyków [59]. Wykazano też, że przyjmowanie oligofruktozy spowodowało przyspieszone występowanie uczucia sytości po śniadaniu i kolacji oraz znacząco osłabiło uczucie głodu. Opisane wyżej zależności i obserwacje wydają się sugerować ważną rolę suplementacji prebiotykami i stanowią podstawę do dalszych badań nad zastosowaniem tych związków do modyfikacji mikroflory jelitowej, a w efekcie pomoc w leczeniu osób otyłych, z nadwagą oraz cukrzycą typu 2. Reasumując, prebiotyki biochemicznie redukują aktywność układu endokannabinoidowego w jelicie, zwiększają stężenie glukagonopodobnego peptydu 2 (GLP-2, *glucagon-like peptide 2*) wpływającego na wzrost syntezy białek tworzących połączenia ściste (*zonula occludens 1 i 2*, okludyna), powodują wzrost liczby bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, wpływają na poprawę funkcji i integralności bariery jelitowej, zmniejszenie endotoksemii i stężenia cytokin prozapalnych, redukują stres oksydacyjny [60].

Probiotyki

Probiotyki, czyli żywe bakterie wywierające korzystny wpływ na zdrowie człowieka, zapewniają zróżnicowaną, dobrze funkcjonującą mikroflorę jelitową, która gwarantuje optymalne odzyskiwanie energii z pożywienia i jej magazynowanie w organizmie.

Przyjmowanie probiotyków moduluje mikroflorę jelitową poprzez zwiększenie liczby bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* i pałeczek kwasu mlekowego. Dzięki temu następuje poprawa w zakresie działania i szczelności bariery jelitowej, co prowadzi do ograniczenia wewnętrznej toksemii oraz reakcji zapalnej w organizmie, a w konsekwencji — poprawia się insulinowrażliwość oraz gospodarka węglowodanowa i lipidowa

[61]. Działanie probiotyków jest swoiste dla danego szczepu i ich zastosowanie powinno być poprzedzone specyficznymi dla szczepu badaniami klinicznymi. Za najskuteczniejsze metabolicznie gatunki bakterii uznaje się: *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus gasei*, *Bifidobacterium lactis*. Dotychczas opublikowano wyniki tylko dwóch randomizowanych badań klinicznych, w których oceniano skuteczność stosowania probiotyków w leczeniu nietolerancji glukozy i/lub cukrzycy [62] oraz nadwagi i otyłości trzewnej [63]. W pierwszym badaniu oceniano wpływ podawania szczepu *Lactobacillus acidophilus* NCFM na insulinowrażliwość oraz na odpowiedź na obciążenie endotoksyną LPS u 45 osób bez zaburzeń oraz z zaburzeniami tolerancji glukozy lub chorych na cukrzycę typu 2 [62]. Przeprowadzone metodą podwójnie ślepej próby, randomizowane, kontrolowane placebo badanie trwało 4 tygodnie. Dziennie podawano 1010 CFU bakterii probiotycznych, które poprawiły wrażliwość na insulinę i nie wpłynęły na ogólnoustrojową odpowiedź zapalną. W drugim badaniu [63] oceniano wpływ *Lactobacillus gasei* SBT2055 (1010 CFU/d.) na parametry antropometryczne 87 pacjentów z BMI 24,2–37,0 kg/m² i otyłością trzewną. Badanie to trwało 12 tygodni i spełniało wymogi medycyny opartej na faktach (EBM, *evidence-based medicine*). Stwierdzono, że podawanie probiotyku powoduje zmniejszenie masy ciała, BMI, obwodu talii i bioder oraz obniżenie zawartości tłuszczu trzewnego i w tkance podskórnej. Nie bez znaczenia pozostają też postać i formuła, w jakiej są przyjmowane bakterie probiotyczne. Najbardziej znanym nośnikiem bakterii probiotycznych są produkty mleczne (jogurty). Jednakże krótki termin spożycia oraz wymóg przechowywania tych produktów w lodówce nie zapewniają optymalnej liczby korzystnych dla zdrowia bakterii. Wydaje się zatem, że optymalną i bezpieczną formą podawania probiotyków są liofilizaty dostępne w postaci kapsułek lub saszetek.

Transplantacja mikroflory jelitowej

Transplantacja mikroflory jelitowej cieszy się dużym zainteresowaniem środowiska medycznego, jednak ze względu na aspekty higieniczne, estetyczne i kulturowe mniejszą akceptacją pacjentów. Bardzo obiecujące wyniki badań doświadczalnych przeprowadzonych na zwierzętach skłoniły badaczy do zastosowania transplantacji mikroflory jelitowej w leczeniu zaburzeń metabolicznych i otyłości. Dotychczas w pojedynczym badaniu u pacjentów po transplantacji mikroflory jelitowej wykazano po 6 tygodniach zwiększoną wrażliwość na insulinę. Metoda polega na wprowadzeniu kału dawcy po uprzednim homogenizowaniu lub rozcieńczeniu do

dwunastnicy w przypadku chorób metabolicznych lub do jelita grubego przy infekcjach *Clostridium* metodą endoskopową. Ośrodki mające największe doświadczenia to *Centre for Digestive Diseases* w Sydney (> 3000 transplantacji) oraz *Academic Medical Center* w Amsterdamie (> 200 transplantacji). Należy podkreślić, że nie stwierdzono ciężkich działań niepożądanych [64].

Podsumowanie

Nie ma wątpliwości, że bakterie jelitowe odgrywają bardzo ważną rolę w patogenezie otyłości i cukrzycy typu 2. Zastosowanie praktyczne tej wiedzy pozostawia jeszcze wiele do życzenia. Oczywiście jest, że przez modulację mikroflory możliwy jest korzystny wpływ na przemianę materii. Do wykorzystania jest szereg narzędzi, w tym prebiotyki, probiotyki, leki antybakteryjne, jak choćby mający szerokie zastosowanie w gastroenterologii preparat ryfaksyminy. Optymistyczne wydają się też coraz śmielsze i coraz bardziej zaawansowane próby transplantacji mikroflory.

PIŚMIENNICTWO

1. Kahn B.B., Alquier T., Carling D., Hardie D.G. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab.* 2005; 1: 15–25.
2. DiBaise J.K., Zhang H., Crowell M.D. i wsp. Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clin. Proc.* 2008; 83: 460–469.
3. 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.
4. Denechaud P.D., Dentin R., Girard J., Postic C. Role of ChREBP in hepatic steatosis and insulin resistance. *FEBS Lett.* 2008; 582: 68–73.
5. 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.
6. Pai R., Kang G. Microbes in the gut: a digestible account of host-symbiont interactions. *Indian J. Med. Res.* 2008; 128: 587–594.
7. Palmer C., Bik E.M., DiGiulio D.B., Relman D.A., Brown P.O. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 2007; 5: e177.
8. 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.
9. Liszt K., Zwieler J., Handschur M. i wsp. Characterization of bacteria, clostridia and Bacteroides in faeces of vegetarians using qPCR and PCR-DGGE fingerprinting. *Ann. Nutr. Metab.* 2009; 54: 253–257.
10. Ley R.E., Turnbaugh P.J., Klein S., Gordon J.I. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022–1023.
11. Arumugam M., Raes J., Pelletier E. i wsp. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473: 174–180.
12. Kootte R.S., Vrieze A., Holleman F. i wsp. The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes. Metab.* 2012; 14: 112–120.
13. Benson A.K., Kelly S.A., Legge R. i wsp. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010; 107: 18933–18938.

14. Burcelin R., Serino M., Chabo C., Blasco-Baque V., Amar J. Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective. *Acta Diabetol.* 2011; 48: 257–273.
15. Agans R., Rigsbee L., Kenche H. i wsp. Distal gut microbiota of adolescent children is different from that of adults. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2011; 77: 404–412.
16. Stachowicz N., Kiersztan A. Rola mikroflory jelitowej w patogenezie otyłości i cukrzycy typu 2. *Postępy Hig. Med. Dosw.* 2013; 67: 288–303.
17. Shanahan F., Murphy E. The hybrid science of diet, microbes, and metabolic health. *Am. J. Clin. Nutr.* 2011; 94: 1–2.
18. Neu J., Douglas-Escobar M., Lopez M. Microbes and the developing gastrointestinal tract. *Nutr. Clin. Pract.* 2007; 22: 174–182.
19. Enck P., Zimmermann K., Rusch K. The effects of maturation on the colonic microflora in infancy and childhood. *Gastroenterol. Res. Pract.* 2009; 2009: 752401.
20. Tilg H., Moschen A., Kaser A. Obesity and the microbiota. *Gastroenterology* 2009; 136: 1476–1483.
21. Membrez M., Blancher F., Jaquet M. i wsp. Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J.* 2008; 22: 2416–2426.
22. Żak-Gołąb A., Olszanecka-Glinianowicz M., Kocelak P., Chudek J. Rola flory jelitowej w patogenezie otyłości. *Postępy Hig. Med. Dosw.* 2014; 68: 84–90.
23. Wilders-Truschling M., Mangge H., Lieners C. i wsp. IgG Antibodies Against Food Antigens are correlated with inflammation and intima media thickness in obese juveniles. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes (online)* 2007.
24. Stappenbeck T.S., Hooper L.V., Gordon J.I. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99: 15451–15455.
25. Flint H.J., Bayer E.A., Rincon M.T., Lamed R. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. *Nat. Rev. Microbiol.* 2008; 6: 121–131.
26. 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.
27. Wong J.M., de Souza R., Kendall C.W., Emam A. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J. Clin. Gastroenterol.* 2006; 40: 235–243.
28. Schwierz A., Taras D., Schäfer K. i wsp. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity* 2010; 18: 190–195.
29. Denechaud P.D., Dentin R., Girard J., Postic C. Role of ChREBP in hepatic steatosis and insulin resistance. *FEBS Lett.* 2008; 582: 68–73.
30. Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J. i wsp. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science* 2012; 336: 1262–1267.
31. Gao Z., Yin J., Zhang J. i wsp. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes* 2009; 58: 1509–1517.
32. Duncan S.H., Belenguer A., Holtrop G. i wsp. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007; 73: 1073–1078.
33. 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.
34. Kahn B.B., Alquier T., Carling D., Hardie D.G. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab.* 2005; 1: 15–25.
35. Lefebvre P., Cariou B., Lien F., Kuipers F., Staels B. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol. Rev.* 2009; 89: 147–191.
36. 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* 2011; 108 (Supl. 1): 4523–4530.
37. Thomas C., Gioiello A., Noriega L. i wsp. TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis. *Cell Metab.* 2009; 10: 167–177.
38. Dziewiatowska J., Janczy A., Steinka I., Pieszko M., Małgorzewicz S. Związek pomiędzy mikroflorą jelitową a otyłością. *Forum Zab. Metab.* 2014; 5: 20–25.
39. Levin B.E., Keesey R.E. Defense of differing body weight set points in diet-induced obese and resistant rats. *Am. J. Physiol.* 1998; 274: 412–419.
40. Tappy L. Metabolic consequences of overfeeding in humans. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2004; 7: 623–628.
41. Żak-Gołąb A., Olszanecka-Glinianowicz M., Kocelak P., Chudek J. Rola flory jelitowej w patogenezie otyłości. *Postępy Hig. Med. Dosw.* 2014; 68: 84–90.
42. 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.
43. 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.
44. Farooqi I.S., Bullmore E., Keogh J. i wsp. Leptin regulates striatal regions and human eating behavior. *Science* 2007; 317: 1355.
45. 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.
46. Amar J., Burcelin R., Ruidavets J. i wsp. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 87: 1219–1223.
47. Erridge C., Attina T., Spickett C. i wsp. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am. J. Clin. Nutr.* 2007; 86: 1286–1292.
48. Vijay-Kumar M., Aitken J., Carvalho F. i wsp. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science* 2010; 328: 228–231.
49. 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 mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol. Med.* 2011; 3: 559–572.
50. Saberi M., Woods N., de Luca C. i wsp. Hematopoietic cell-specific deletion of Toll-like receptor 4 ameliorates hepatic and adipose tissue insulin resistance. *Cell Metab.* 2009; 10: 419–429.
51. 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.
52. 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.
53. Larsen N., Vogensen F.K., van der Berg F.W. i wsp. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One* 2010; 5: 9085.
54. Claesson M.J., Cusack S., O'Sullivan O. i wsp. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011; 108 (Supl. 1): 4586–4591.
55. Brugman S. i wsp. Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the Bio-Breeding diabetes prone rat. Is the gut flora involved in the development of type 1 diabetes? *Diabetologia* 2006; 49: 2105–2108.
56. Delzenne N.M., Cani P.D., Daubioul C., Neyrinck A.M. Impact of inulin and oligofructose on gastrointestinal peptides. *Br. J. Nutr.* 2005; 93 (Supl. 1): S157–S161.
57. Vilsbøll T., Krarup T., Madsbad S., Holst J.J. Both GLP-1 and GIP are insulinotropic at basal and postprandial glucose levels and contribute nearly equally to the incretin effect of a meal in healthy subjects. *Regul. Pept.* 2003; 114: 115–121.
58. 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.

59. Archer B.J., Johnson S.K., Devereux H.M., Baxter A.L. Effect of fat replacement by inulin or lupin-kernel fibre on sausage patty acceptability, post-meal perceptions of satiety and food intake in men. *Brit. J. Nutr.* 2004; 91: 591–599.
60. Muccioli G.G., Naslain D., Bäckhed F. i wsp. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol. Syst. Biol.* 2010; 6: 392.
61. Marlicz W., Ostrowska L., Łoniewski I. Flora bakteryjna jelit i jej potencjalny związek z otyłością. *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii* 2013; 9: 20–28.
62. Andreasen A., Larsen N., Pedersen-Skovsgaard T. i wsp. Effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. *Br. J. Nutr.* 2010; 104: 1831–1838.
63. 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.
64. Ostrowska L., Marlicz W., Łoniewski I. Transplantacja mikroflory jelitowej w leczeniu otyłości i zaburzeń metabolicznych. *Forum Zab. Metab.* 2013; 4: 161–169.

