

Kształtowanie się mikrobioty jelitowej u niemowląt warunkiem zachowania zdrowia

Optimal development of infantile gut microbiota secure longterm health

Mirosława Gałęcka¹, Anna Bartnicka^{1,2}, Monika Szewc¹, Jan Mazela²

¹ Instytut Mikrobiologii, Poznań

² Klinika Zakażeń Noworodka, Uniwersytet Medyczny, Poznań

STRESZCZENIE

Mikrobiota przewodu pokarmowego od momentu porodu znacząco wpływa na zdrowie człowieka. Jej odpowiednie kształtowanie jest niezbędne do dalszego rozwoju i prawidłowego funkcjonowania organizmu. Mikroorganizmy przewodu pokarmowego pełnią szereg pozytywnych funkcji, m.in. są odpowiedzialne za aktywację i dojrzewanie układu immunologicznego. Coraz częściej podkreśla się także zaangażowanie mikrobioty jelitowej w mechanizmy związane z metabolizmem i wydatkowaniem energetycznym organizmu. Co więcej, mikrobiota jelitowa może wpływać również na mózg i zachowanie człowieka za pośrednictwem osi mózgowo-jelitowej. Jednym słowem, bez bakterii nie istnieje prawidłowo funkcjonujący organizm. Zatem odpowiednie modulowanie mikrobioty jelitowej (za pomocą probiotyków, prebiotyków, innych) jest przyszłościową terapią leczenia i prewencji szeregu chorób przebiegających z dysbiozą jelitową.

Standardy Medyczne/Pediatrics ■ 2016 ■ T. 13 ■ 359-367

SŁOWA KLUCZOWE: ■ MIKROBIOTA JELITOWA ■ AUTYZM ■ OTYŁOŚĆ ■ PROBIOTYKI ■ ŻYWNOŚĆ FERMENTOWANA

ABSTRACT

Intestinal microbiota plays an important role in human health from birth. Optimal bacterial colonization is essential for further development and correct function of many organs and systems. Gut microbiota is responsible for many complex functions such as digestion and absorption within gastrointestinal tract but also for less straightforward activities such as activation and maturation of the immune system. Furthermore intestinal microbiota may also affect the brain and behavior through the gut-brain axis. Without bacteria the homeostasis of the organism can be disturbed. Optimization of the intestinal microbiota profile by pre- and probiotics can be an important therapeutic strategy in the prevention of conditions linked with intestinal dysbiosis.

Standardy Medyczne/Pediatrics ■ 2016 ■ T. 13 ■ 359-367

KEY WORDS: ■ GUT MICROBIOTA ■ AUTISM ■ OBESITY ■ PROBIOTICS ■ FERMENTED FOOD

Wstęp

Badania nad ludzką mikrobiotą przeżywają obecnie rozkwit. Mikroorganizmy przewodu pokarmowego tworzą skomplikowany ekosystem oddziałujący wielokierunkowo na zdrowie gospodarza. Pomiedzy komórkami bakterii a komórkami naszego ciała istnieją specyficzne szlaki komunikacyjne, za pośrednictwem których występuje między nimi ciągła interakcja (ang. *cross-talk proces*). To właśnie ten mechanizm warunkuje homeostazę organizmu i określa jego zdrowie lub chorobę¹. Ze względu na to wpływ ekosystemu jelitowego na człowieka jest przedmiotem zainteresowania wielu badaczy z różnych dyscyplin, zarówno medycznych,



GLÓWNE TEZY

1. Pierwotna kolonizacja przewodu pokarmowego determinuje dalszy rozwój i funkcjonowanie człowieka. Zaburzona sukcesja mikroorganizmów może przekładać się na szereg chorób w wieku późniejszym.
2. Mikrobiota jelitowa jest niezbędna do aktywacji i dojrzewania układu immunologicznego dziecka. Bez bakterii nie ma odporności.
3. Zaburzenia w profilu mikrobioty przewodu pokarmowego związane są z licznymi jednostkami chorobowymi, w tym autyzmem, otyłością oraz innymi chorobami cywilizacyjnymi.

jak i biomedycznych. Szczególnie istotny obszar badań stanowią mikroorganizmy zasiedlające przewód pokarmowy, a w szczególności jelito grube. W 1 g treści jelitowej może znajdować się aż 10^{14} komórek mikroorganizmów, w tym bakterii, archeonów czy grzybów. Genom mikrobioty jelitowej przewyższa liczebnością genom człowieka (1 000 000 vs 23 000 genów), co przekłada się na jej ogromny potencjał metaboliczny². Ten zbiorowy zestaw genów mikroflory jelitowej nazywa się trzecim genomem ssaków, obok jądrowego i mitochondrialnego³.

Znaczenie mikrobioty jelitowej

Najważniejsze funkcje mikrobioty jelitowej to aktywacja i koordynowanie układu immunologicznego, oporność na kolonizację mikroorganizmami patogennymi, funkcja metaboliczna i troficzna⁴. Wszystkie te procesy wzajemnie się uzupełniają. Bakterie ochronne, w tym *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp., są naturalną tarczą zabezpieczającą przed kolonizacją przez patogenne mikroorganizmy. Ponadto współzawodniczą z nimi o obecne w jelicie substancje pokarmowe i odżywcze. Bakterie ochronne wytwarzają liczne bakteriocyny oraz kwasy organiczne, które działają bakteriobójczo lub bakteriostatycznie na wiele drobnoustrojów chorobotwórczych. Liczne bakterie jelitowe, prowadząc procesy fermentacji, skutecznie obniżają pH i stwarzają tym samym niekorzystne warunki dla bakterii chorobotwórczych⁵. Mikroorganizmy jelitowe, w tym przede wszystkim bakterie z rodzaju *Lactobacillus* czy *Enterobacteriaceae*, wytwarzają także laktazę⁶, uzupełniając pulę tego enzymu produkowaną na rąbku szczoteczki jelita cienkiego. **Wspomagają tym samym trawienie laktozy**, co jest szczególnie ważne w przypadku niemowląt, dla których mleko jest podstawowym źródłem pożywienia. Ponadto dzięki mikrobiocie jelitowej możliwe jest trawienie pokarmów, w tym także tych, które za pośrednictwem naszych enzymów trawiennych nie mogłyby zostać przekształcone (np. błonnik oraz tzw. skrobia oporna). Szacuje się, że ta mikrobiologiczna transformacja substancji złożonych w substancje proste może dostarczać nawet 10% energii dla komórek człowieka. Najważniejsze źródło energii dla kolonocytów stanowią krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (ang. *short chain fatty acids*, SCFA) (głównie maślan, octan i propionian) powstające na drodze fermentacji egzogennych sacharydów złożonych przez bakterie jelita grubego. Dodatkowo SCFA pobudzają wchłanianie jonów wapnia, magnezu i żelaza z jelita grubego. Ponadto mikroorganizmy jelitowe syntetyzują niezbędne dla człowieka witaminy z grupy B (B_1 , B_2 , B_3 , B_6 , B_{12}) oraz witaminę K, a także wpływają na recyrkulację kwasów tłuszczowych^{7,8}.

Kształtowanie się mikrobioty jelitowej

Mikroorganizmy jelitowe wywierają wpływ na organizm człowieka od momentu narodzin. Aczkolwiek coraz częściej podkreśla się fakt, że do stymulacji tej może dochodzić już wewnątrzmacicznie⁹. Do niedawna przyjmowano, że płód pozbawiony jest prenatalnej stymulacji antygenowej. Aktualnie wiemy już, że zarówno status zdrowotny matki, jak i jej własna mikroflora wpływają na późniejszy skład mikrobioty jelitowej dziecka. Ponadto składniki antygenowe mikroorganizmów matki już w środowisku *in utero* mogą wpływać na odpowiedź immunologiczną u płodu oraz na późniejszą tolerancję immunologiczną dziecka. Jimenez i wsp. podawali doustnie ciężarnym myszom zawiesinę ze znakowanym szczepem *Enterococcus faecium*. Druga grupa ciężarnych myszy otrzymywała placebo. U wszystkich zwierząt ciąży zakończono przez cięcie cesarskie, uniemożliwiając w ten sposób przeniesienie na młode bakterii bezpośrednio z przewodu pokarmowego matki. Badany szczep wykryto tylko w smólkach noworodków mysich karmionych *E. faecium*. Żaden noworodek z grupy placebo nie był skolonizowany opisywaną bakterią¹⁰. Potwierdza to możliwość translokacji na płód bakterii lub ich antygenów z przewodu pokarmowego matki. Dane te mogą wiązać się w przyszłości ze stworzeniem nowych możliwości prewencyjnych szeregu chorób już na etapie prenatalnym. Aktywacja i rozwój układu immunologicznego zależą od składu mikrobioty jelitowej przede wszystkim w okresie noworodkowym i niemowlęcym. Zatem ważny jest początkowy okres kolonizacji dziecka. **Jednym z najważniejszych czynników wpływających na kolonizację dziecka jest rodzaj porodu oraz sposób karmienia.** Najbardziej pożądanym jest poród naturalny. Noworodek nabywa wtedy mikroorganizmy z dróg rodnych oraz przewodu pokarmowego matki i jest to najbardziej prawidłowy sposób sukcesji mikroorganizmów. Podczas porodu za pomocą cesarskiego cięcia kolonizacja często ma przebieg przypadkowy, a noworodki zasiedlane są mikroflorą skórną, w tym niestety także szczepami szpitalnymi¹¹. Dzieci urodzone cięciem cesarskim częściej zapadają na astmę, choroby alergiczne i atopowe, cukrzycę typu 1 czy otyłość¹²⁻¹⁵. Bardzo ważnym aspektem kolonizacji jelit noworodka jest sposób karmienia. Co ważne, także w życiu dorosłym jednym z najistotniejszych czynników wpływających na skład mikroflory jelitowej jest właśnie dieta. Najbardziej optymalne jest karmienie piersią. Pokarm matki to swego rodzaju synbiotyki zawierający zarówno probiotyki, czyli korzystne bakterie, jak i prebiotyki, czyli substancje będące stymulatorem wzrostu fizjologicznych bakterii jelitowych. W mleku matki obecne są oligosacharydy pełniące funkcję „pożywki” dla bakterii jelitowych. To dzie-

ki nim możliwy jest wzrost szczególnie pożądanых w tym okresie bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*. Dodatkowo oligosacharydy te, za pośrednictwem odpowiednich receptorów, posiadają zdolność przyczepiania się do nabłonka jelitowego i tym samym zapobiegania kolonizacji przez bakterie patogenne¹⁶. Co więcej, w mleku kobiecym występują bakterie z rodzaju *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium*. Sugeruje się, że bakterie te pochodzą bezpośrednio z przewodu pokarmowego matki¹⁷. Dokładne oznaczenie genetyczne szczepów bakterii z mleka kobiecego i próbek kału niemowląt wykazało obecność dokładnie tych samych genotypów bakterii, co wskazuje, że mleko matki odgrywa znaczącą rolę w pierwotnym procesie kolonizacji jelit noworodków¹⁸.

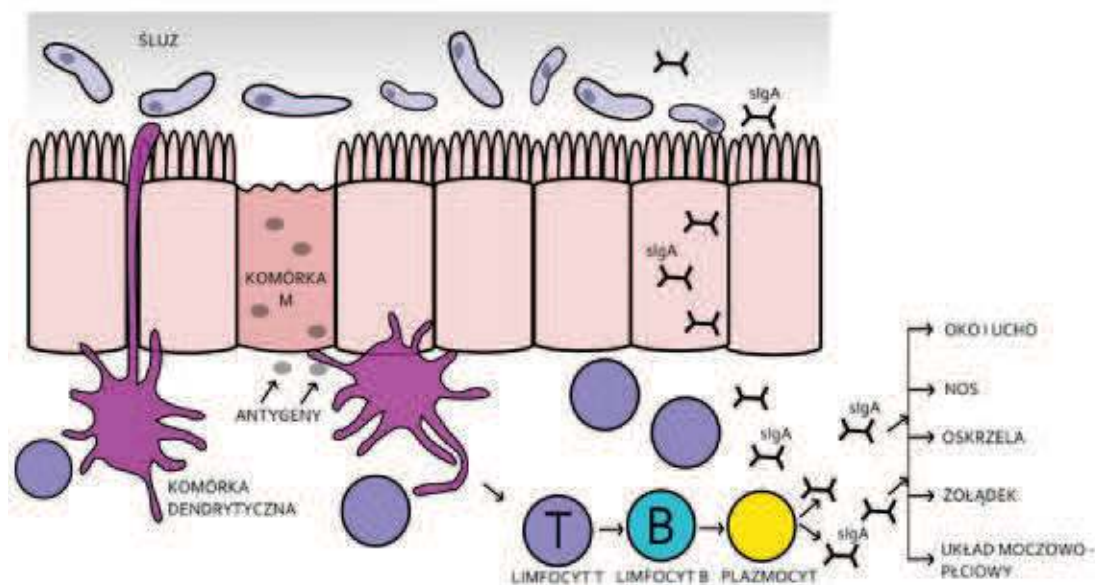
Mikrobiota a układ immunologiczny

Układ immunologiczny zdrowego doroszonego noworodka, pomimo wykształcenia struktur anatomicznych, jest niedojrzały. **Pionierskie mikroorganizmy są pierwszymi antygenami stymulującymi rozwój odporności dziecka.** Bardzo ważne jest, aby ta pierwotna kolonizacja przebiegła odpowiednio, dlatego tak istotny jest właśnie rodzaj porodu.

Pierwszymi bakteriami, które powinny znaleźć się w przewodzie pokarmowym dziecka, są *Escherichia coli* z jelit matki. Bakteria ta wykorzystuje tlen znajdujący się w jelitach i stwarza odpowiednie warunki dla rozwoju bakterii beztlenowych, których liczebność w jelicie grubym u osoby dorosłej jest największa. W przebiegu prawidłowej kolonizacji w jelitach dziecka pojawiają się także bakterie z rodzaju *Enterococcus* i *Staphylococcus*. Następnymi mikroorganizmami w przewodzie pokarmowym noworodka są bakterie z rodzaju *Lactobacillus* pochodzące z pochwy i przewodu pokarmowego matki. Ponadto u dzieci karmionych mlekiem matki ok. 2. doby życia pojawiają się szczególnie istotne bakterie z rodzaju *Bifidobacterium*². Stabilizacja mikrobioty jelitowej następuje ok. 2. roku życia, a ok. 5.-7. r.ż. składem przypomina mikroflorę osoby dorosłej. Mikroflora jelitowa oddziałuje na naszą odporność za pośrednictwem układu limfatycznego GALT (ang. *Gut Associated Lymphoid Tissue*), ściśle związanego z przewodem pokarmowym. Jest on integralną częścią układu odpornościowego, związanego z błonami śluzowymi, tzw. MALT (ang. *Mucosa Associated Lymphoid Tissue*)¹⁹. **W obrębie tkanki limfatycznej przewodu pokarmowego znajduje się 70% limfocytów z całej puli organizmu**²⁰. Ciągły kontakt mikroflory przewodu pokarmowego z układem odpornościowym jelit warunkuje utrzymywanie prawidłowej odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Co więcej, mikrobiota niepatogenna, w przeciwieństwie do bakterii chorobotwórczych, nie aktywuje odpo-

wiedzi zapalnej²¹. W skład układu GALT wchodzi zorganizowane kompleksy komórkowe (kępki Peyera, samotne grudki chłonne oraz węzły chłonne krezkowe), a także komórki rozproszone w obrębie nabłonka jelitowego (limfocyty śródnabłonkowe) lub w blaszce właściwej jelita (limfocyty T i B, makrofagi, komórki dendrytyczne)^{21,22}. Podstawową funkcją GALT jest produkcja wydzielniczej IgA (sIgA), czyli pierwszej linii obrony śluzówkowej. W obrębie kępek Peyera znajdują się wyspecjalizowane komórki M, za pomocą których antygeny bakteryjne transportowane są ze światła jelita. Antygeny zewnętrzne mogą także wnikać bezpośrednio poprzez nabłonek jelita. Na powierzchni niepatogennych bakterii jelitowych znajdują się wzorce molekularne CAMP (ang. *commensal associated molecular patterns*) swoiste dla receptorów je rozpoznających PRR (ang. *pattern recognition receptors*), znajdujących się z kolei na komórkach nabłonkowych, dendrytycznych oraz makrofagach. Wśród PRR największe znaczenie mają przede wszystkim *toll-like receptors* (TLR). Między 18. a 21. t.c. na komórkach nabłonkowych jelita cienkiego u płodu obecne są już receptory TLR-2 oraz TLR-4. Pobudzenie receptorów TLR-4 wiąże się ze wzrostem czynnika jądrowego NF-kB i zwiększoną produkcją cytokin prozapalnych²³. Dzięki wspomnianym receptorom komórki dendrytyczne oraz makrofagi jelitowe wychwytyują antygeny zewnętrzne i prezentują je limfocytom T i B. Aktywne limfocyty B przekształcają się w plazmocyty i wędrują naczyniami chłonnymi do węzłów chłonnych krezki i przez przewód piersiowy dostają się do krwiobiegu. Z krwią migrują do oddalonych śluzówek organizmu (m.in. układ oddechowy, moczowo-płciowy, gruczoły endokrynne), gdzie produkują sIgA. Mechanizm ten przedstawiono na **Rycinie 1**. W przypadku zaburzeń w mikroflorze jelitowej jest on zachwiany, co skutkuje niedoborem sIgA, a tym samym niedostateczną ochroną na wszystkich śluzówkach organizmu.

Ważną funkcją autochtonicznej mikrobioty jelitowej jest aktywacja sieci cytokinowej. Mikroorganizmy jelitowe, poza indukcją odpowiedzi nieswoistej (przeciwciała wydzielnicze i krążące), są także odpowiedzialne za utrzymanie równowagi limfocytów Th1/Th2 przez całe życie człowieka. Mikrobiota jelitowa oddziałuje na tę równowagę za pomocą limfocytów regulatorowych (Treg), które wpływają na produkcję cytokin przez limfocyty T i odpowiadają za rozwój tolerancji immunologicznej (alergeny i antygeny zewnętrzne). U płodu przeważa odpowiedź limfocytów Th2. Bezpośrednio po porodzie mikrobiota jelitowa noworodka odpowiedzialna jest za indukcję równowagi cytokinowej poprzez aktywację limfocytów Th1. Nieprawidłowa kolonizacja, a co za tym idzie, nieodpowiednia stymulacja immunologiczna i utrzymywanie się przewagi limfocytów Th2,



RYC. 1 Organizacja układu immunologicznego związanego z przewodem pokarmowym

wiąże się ze zwiększonym ryzykiem atopii i alergii w dalszych latach życia dziecka²³. Dlatego tak ważna jest odpowiednia kolonizacja jelit noworodka już od momentu porodu, a tym samym prawidłowa stymulacja układu immunologicznego. Wykazano, że zmniejszenie liczebności *Bacteroidetes* oraz obniżenie bioróżnorodności wiąże się z obniżoną aktywacją limfocytów Th1 u dzieci urodzonych przez cięcie cesarskie²⁴. Nieprawidłowy bilans Th1/Th2 na korzyść Th1 skutkuje zwiększonym ryzykiem chorób atopowych². Wpływ naturalnej mikroflory jelitowej na odpowiedź immunologiczną potwierdzony jest przede wszystkim w badaniach na zwierzętach *germ-free*, czyli całkowicie sterylnych. Charakteryzują się one obniżoną odpornością nieswoistą oraz immunologiczną, zredukowaną liczbą kępek Peyera, a także niedoborem sIgA²⁵⁻²⁷. Kolonizacja tych zwierząt fizjologiczną mikroflorą wpływa na powstawanie większej ilości kępek Peyera oraz namnażanie się limfocytów w blaszce właściwej²². W innym badaniu wykazano z kolei, że zasiedlanie myszy *germ-free* mieszaniną 3 różnych szczepów *Lactobacillus* istotnie wpływało na wzrost integralności błony śluzowej jelita cienkiego oraz indukcję wytwarzania przeciwciał IgA²⁸.

Zaburzenia mikrobioty a stany chorobowe

Znaczenie mikroflory przewodu pokarmowego rozpatrywane jest aktualnie w szeregu jednostek chorobowych, począwszy od dolegliwości przewodu pokarmowego, a skończywszy na zaburzeniach neurorozwojowych (autyzmie) lub psychiatrycznych. Dysbioza jelitowa, czyli jakościowo-ilościowe zaburzenia w składzie mikroflory, może być jednym

z czynników biorących udział w patogenezie szeregu chorób, takich jak martwicze zapalenie jelit noworodków (NEC), celiakia, nieswoiste zapalenia jelit, zespół jelita nadwrażliwego, atopowe zapalenie skóry, choroby alergiczne, depresja, nowotwory i inne²⁹⁻³⁴. Podkreśla się, że u podstawy zaburzeń w mikroflorze jelitowej, a tym samym rozwoju chorób cywilizacyjnych leży nadmierna higienizacja życia powiązana z niedostateczną stymulacją antygenową. W krajach rozwiniętych obserwuje się spadek częstości chorób zakaźnych, a wzrost chorób cywilizacyjnych, w tym astmy, stwardnienia rozsianego, choroby Leśniowskiego-Crohna, cukrzycy typu 1, otyłości i innych². Związane jest to z tzw. westernizacją życia codziennego, czyli stosowania swoistego rodzaju reżimu higienicznego, nadmiernej antybiotykoterapii, nieodpowiedniej diety (wysokoprzetworzona żywność, brak błonnika w diecie) oraz zwiększonej liczby cięć cesarskich bez wskazań medycznych. Zaburzona kolonizacja przewodu pokarmowego może być przyczyną nieprawidłowej aktywacji układu odpornościowego i zwiększonej zachorowalności w wieku późniejszym. **Mikrobiota jelitowa jest swego rodzaju programatorem dalszego rozwoju i zdrowia człowieka**². Niezmiernie ważnym okresem w tym mechanizmie jest okres pierwszych kilku lat życia dziecka. Dowiedziano, że nieprawidłowy profil mikrobioty jelit, z obniżeniem liczby *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* oraz *Bacteroides* i jednoczesną przewagą bakterii z rodzaju *Clostridium* oraz *Staphylococcus aureus*, wiąże się ze zwiększonym ryzykiem alergii u dzieci^{35,36}. Ważne jest, aby uzmysłowić sobie, że zaburzenia w profilu mikrobioty jelitowej na wczesnym etapie kolonizacji nie muszą ma-

nifestować się klinicznie. Stany chorobowe związane z dysbiozą jelitową mogą ujawnić się nawet w wieku późniejszym. Kalliomäki i wsp. dowiedli, że redukcja liczebności *Bifidobacterium* między 6. a 12. m.ż. dziecka jest czynnikiem wpływającym na wystąpienie otyłości w wieku 7 lat³⁷. W innej analizie ten sam zespół badawczy wykazał, że u dzieci, u których w 1. r.ż. ujawniły się objawy alergii, zmiany na poziomie mikrobioty występowały już w 3. t.ż. Zaburzenia te charakteryzowały się zmniejszeniem liczby *Bifidobacterium* oraz przyrostem bakterii z rodzaju *Clostridium*³⁶. Z kolei u 5-letnich dzieci z alergią obniżenie liczebności *Lactobacillus* (*L. rhamnosus*, *L. casei* i *L. paracasei*) i *Bifidobacterium* odnotowano w 2 pierwszych miesiącach życia³⁸.

Autyzm

Zaburzenia ze spektrum autyzmu (ang. *autism spectrum disorders*, ASD) to w krajach rozwiniętych swoistego rodzaju epidemia. Najnowsze badania dowodzą, że mikrobiota jelitowa może również oddziaływać na mózg, a tym samym zachowanie człowieka (oś jelitowo-mózgowa)³⁹. Pokazują także, że może ona aktywować szlaki neuronowe i ośrodkowy układ nerwowy (OUN)⁴⁰. Etiologia autyzmu jest wieloczynnikowa. **Postuluje się, że mikrobiota jelitowa może mieć znaczący udział w patogenezie i/lub utrzymaniu objawów choroby.** Za teorią tą przemawiają często raportowane dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego u dzieci ze spektrum autyzmu. Dysfunkcje przewodu pokarmowego w tej grupie pacjentów występują znacznie częściej niż w populacji ogólnej (9-85%)⁴¹. Rozbieżności w publikowanych danych wynikają z faktu, że część dzieci nie jest w stanie zgłaszać bólu i dolegliwości w obrębie jelit, co często może przekładać się na agresję i zaburzenia nastroju.

Pierwsze wzmianki o potencjalnym udziale bakterii jelitowych w patogenezie autyzmu pojawiły się, kiedy dr Bolte, matka chłopca z autyzmem, zauważyła zależność między regresem w zachowaniu dzieci z ASD a stosowanymi antybiotykami, głównie ze względu na nawracające infekcje ucha. Wyszła teorię na temat udziału *Clostridium tetani* w patogenezie choroby⁴². Hipoteza opierała się na zależności między częstą antybiotykoterapią a zmianami w mikrobiocie jelitowej i przyrostem niekorzystnej mikroflory. Finegold i wsp. na podstawie tych obserwacji poszerzyli ową hipotezę. Zaburzony ekosystem jelitowy sprzyja namnożeniu mikroorganizmów patogennych, w tym toksynotwórczych szczepów bakterii z rodzaju *Clostridium*⁴³. Namnażanie się bakterii z rodzaju *Clostridium*, szczególnie *C. difficile*, obserwowane jest szczególnie często po antybiotykoterapii⁴⁴. Co więcej, u dzieci z autyzmem po terapii antybiotykowej obserwowano najpierw biegunkę,

a następnie utratę kontaktu z otoczeniem i zaprzestanie mówienia. U dzieci z ASD toksyny produkowane głównie przez bakterie z rodzaju *Clostridium* mogą docierać do ośrodkowego układu nerwowego drogą nerwu błędnego, którego zakończenia unerwiają jelito cienkie⁴¹. Udział bakterii z rodzaju *Clostridium* raportowany jest także w innych jednostkach chorobowych o etiologii wieloczynnikowej, w tym nieswoistych chorobach zapalnych jelit czy martwiczym zapaleniu jelit noworodków^{45,46}. Poza przerostem pojedynczych grup bakterii coraz częściej raportuje się redukcję bioróżnorodności oraz niedobór poszczególnych mikroorganizmów jelitowych. Wang i wsp. wykazali obniżoną liczbę bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* oraz *Akkermansia muciniphila* u dzieci z ASD, co ściśle łączy się z zaburzeniami w integralności bariery jelitowej⁴⁷. Czy w takim razie odwołanie prawidłowej mikroflory jelitowej może redukować objawy autyzmu? Hasio i wsp. wykazali, że suplementacja autystycznej myszy (model zwierzęcy) zawiesiną *Bacteroides fragilis* znacząco zmniejszyła przepuszczalność jelitową oraz wpłynęła na łagodzenie zaburzeń komunikacji, niepokoju i zaburzeń sensomotorycznych⁴⁸. Z kolei podaż dzieciom z ASD bakterii probiotycznej *Lactobacillus plantarum* WCSF1 powodowała istotną poprawę zachowania, a także redukcję objawów brzusznych⁴⁹. Podsumowując wpływ mikrobioty jelit na choroby ośrodkowego układu nerwowego oraz na choroby psychiczne, warto również wspomnieć o zależności pomiędzy bakteriami *Mycobacterium vaccae* żyjącymi w glebie a wydzielaniem serotoniny. Badania wykazały, że podawanie zwierzętom tego szczepu bakterii wiązało się ze zwiększoną produkcją przez neurony serotoniny; efekt jest podobny do tego, który można uzyskać po podawaniu leków antydepresyjnych, takich jak Prozac⁵⁰. To badanie, a także najnowszy przegląd literatury potwierdzają, że odpowiednia stymulacja mikrobioty jelit może być metodą wspomagającą leczenie depresji⁵¹.

Otyłość

Otyłość to istotny problem epidemiologiczny i społeczny już nie tylko w krajach uprzemysłowionych. Występuje wśród coraz młodszych pacjentów i ściśle wiąże się z innymi zaburzeniami metabolicznymi, cukrzycą typu 2 oraz chorobami układu sercowo-naczyniowego. Wiadomym jest, że u podstaw otyłości leży zaburzony bilans energetyczny, najczęściej na skutek nieprawidłowych nawyków żywieniowych i zbyt małej aktywności fizycznej. Na podstawie najnowszych danych podkreśla się też znaczącą rolę mikrobioty jelitowej. Dokładne szlaki odpowiedzialne za ten stan rzeczy są nieustannie w sferze badań. Niemniej jednak postuluje się 3 zasadnicze mechanizmy: uzyskiwanie energii na drodze fermentacji

tacji nietrawionych w jelicie cienkim polisacharydów dostarczanych z pożywieniem, zmniejszanie ekspresji w nabłonku jelitowym czynnika FIAF (ang. *fasting-induced adipocyte factor*) hamującego aktywność jelitowej lipazy lipoproteinowej oraz indukcję wydzielania peptydu YY zwalniającego pasaż jelitowy⁵². Zarówno w badaniach na zwierzętach, jak i na ludziach **wykazano różnice w składzie mikroflory jelitowej u osobników otyłych w porównaniu ze szczupłymi**, głównie w proporcjach 2 najliczniejszych typów *Bacteroidetes* (B) i *Firmicutes* (F). Stosunki te kształtują się następująco: u osobników otyłych $F > B$, u osobników szczupłych $F < B$ ⁵³. W badaniach na modelu zwierzęcym Bäckhed i wsp. wykazali, że zawartość tkanki tłuszczowej u myszy hodowanych w konwencjonalnych warunkach była 40% większa niż u myszy *germ-free*. Co zaskakujące, zwierzęta *germ-free* przyjmowały więcej pożywienia niż grupa myszy standardowych. Ponadto przeniesienie drobnoustrojów z jelita myszy konwencjonalnych do zwierząt *germ-free* skutkowało przyrostem tkanki tłuszczowej o 60%, przy tej samej kaloryczności pożywienia i wydatkowaniu energii⁵⁴. Turnbaugh i wsp. zaprojektowali genetycznie otyły model myszy, który pozbawiony był genu leptyny (*ob/ob*), czyli hormonu regulującego łaknienie. Do porównania użyto myszy szczupłych (*ob/+* i *+/+*). Badacze zaobserwowali, że mikroorganizmy jelitowe myszy (*ob/ob*) posiadają geny kodujące enzymy, które umożliwiają transformację egzogennych polisacharydów. Ponadto w kale badanych zwierząt wykazano zwiększoną ilość końcowych produktów tych przemian oraz mniejszą ilość kalorii, co sugeruje, że mikroorganizmy jelitowe wpływają na ilość pozyskanej i magazynowanej energii z dawki pożywienia⁵⁵. Dodatkowo dokonano transferu mikroflory jelitowej myszy *ob/ob* do myszy *germ-free*. Spowodowało to pozyskiwanie energii z pożywienia i przyrost tkanki tłuszczowej w organizmie większe niż u osobników, które otrzymały mikrobiotę od szczupłych, zdrowych zwierząt. Badacze wskazują, że ilość dodatkowej energii pozyskiwanej w wyniku procesów zależnych od bakterii jelitowych jest niewielka, jednakże po ok. roku może powodować już istotny przyrost masy ciała. Otyłości towarzyszy także powstawanie uogólnionej reakcji zapalnej o niewielkim nasileniu, która może prowadzić do rozwoju zespołu metabolicznego, w tym insulinooporności^{56,57}. W powstawaniu układowej reakcji zapalnej upatruje się także roli mikroflory jelitowej⁵⁸. W badaniach doświadczalnych wykazano mniejsze nasilenie stanu zapalnego w białej tkance tłuszczowej i insulinooporności u myszy hodowanych w warunkach sterylnych niż u osobników, którym przeszczepiono florę jelitową od myszy hodowanych w warunkach konwencjonalnych^{59,60}. Odkrycia te są ważne z punktu widzenia tworzenia nowych stan-

dardów prewencji otyłości. Być może odpowiednie modulowanie mikroflory jelitowej za pomocą diety oraz pre- i probiotyków będzie użyteczne w zwalczaniu narastającej pandemii otyłości. Lee i wsp. podawali *Lactobacillus rhamnosus* PL60 myszom, u których otyłość była indukowana dietą. Wykazano pozytywny wpływ kwasu linolowego wytwarzanego przez tę bakterię na redukcję tkanki tłuszczowej. Przy niezmienionej kaloryczności pokarmu, po 8 tygodniach suplementacji, u zwierząt tych zaobserwowano znaczący spadek masy ciała, co związane było z apoptozą komórek w obrębie tkanki tłuszczowej⁶¹.

Bakterie fermentacji mlekowej

Przy podkreślaniu ogromnego znaczenia mikroflory jelitowej dla utrzymywania homeostazy organizmu ważna jest znajomość oraz umiejętność stosowania skutecznych metod modulowania jej składu. Nieocenione w tym względzie są probiotyki, czyli szczepy bakterii wywierające korzystny wpływ na zdrowie gospodarza. Są to najczęściej bakterie fermentacji mlekowej, w tym przede wszystkim *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium*. Jednakże nie każda bakteria kwasu mlekowego jest probiotykiem. Aby można ją za taką uznać, dany szczep musi mieć klinicznie potwierdzoną skuteczność. Co więcej, właściwości probiotyków nie można ekstrapolować na inne gatunki, nawet tego samego rodzaju bakterii². Probiotyki, podobnie jak fizjologiczna mikrobiota jelitowa (bo z niej się wywodzą), oddziałują na organizm na różnych płaszczyznach. Przede wszystkim współzawodniczą z bakteriami patogennymi o miejsca wiązania do nabłonka i zajmowania niszy ekologicznej. Ponadto szczepy probiotyczne produkują szereg substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, takich jak kwasy organiczne (w tym mlekowy, octowy, propionowy), amoniak, nadtlenek wodoru, bakteriocyny. Probiotyki indukują także powstawanie defensyn i sIgA². Regulują również ekspresję genów enterocytów i dzięki temu regulują odpowiedź zapalną w jelitach⁶². Wpływają także na utrzymywanie równowagi Th1/Th2². Ważną funkcją probiotyków jest udokumentowana prewencja chorób alergicznych i atopii. Ciekawa analiza opisująca ten mechanizm obejmowała podaż probiotyków (*Lactobacillus rhamnosus* GG) w okresie prenatalnym, czyli 2-4 tygodnie przed porodem, matce, a następnie kontynuację suplementacji w zależności od sposobu karmienia przez 6 miesięcy po porodzie. U dzieci karmionych piersią probiotyk podawano dalej matce, a w przypadku karmienia sztucznego suplementację prowadzono u dziecka. Dowiedziono, że w grupie otrzymującej probiotyk w 2. r.ż. wyprysk atopowy występował dwukrotnie rzadziej, pomimo predyspozycji genetycznej, niż w grupie otrzymującej placebo⁶³. Coraz częściej pojawiają się także

prace nad wykorzystaniem probiotyków w prewencji chorób cywilizacyjnych, w tym nadwagi i otyłości u dzieci^{64,65}. Suplementacja probiotykami matki przed porodem istotnie zmniejszała ryzyko cukrzycy ciężarnych oraz skutkowało obniżeniem urodzeniowej masy ciała noworodków⁶⁴. Dziesięcioletni *follow-up* dzieci suplementowanych pre- i postnatalnie wykazał trend do występowania niższej masy ciała w grupie otrzymującej szczepu probiotyczne w porównaniu z grupą otrzymującą placebo⁶⁵.

Poza samymi bakteriami probiotycznymi, które w znaczący sposób regulują metabolizm i odpowiedź immunologiczną gospodarza, warto zwrócić uwagę także na ich metabolity powstające na drodze fermentacji mlekowej. Bakterie fermentacji mlekowej wykorzystywane są w produktach mlecznych do fermentacji laktozy. Produkty fermentacji, przeprowadzanej przez bakterie tej grupy (głównie kwas mlekowy i octowy), chronią dziecko przed patogennymi szczepami *E. coli* oraz *Clostridium perfringens*⁶⁶. Bakterie fermentacji mlekowej, za pomocą enzymów proteolitycznych, mogą być bogatym źródłem biologicznie aktywnych peptydów, czyli mniejszych fragmentów białek, które mają korzystny wpływ na zdrowie gospodarza. Redukują ryzyko chorób przewlekłych oraz zwiększają odpowiedź immunologiczną organizmu. Ich najważniejsze funkcje to działanie przeciwbakteryjne, antyoksydacyjne, przeciwzakrzepowe, immunomodulujące i obniżające ciśnienie krwi. Dowiedziono także, że mogą wpływać pozytywnie na układ immunologiczny, krążenia, nerwy oraz pokarmowy. Peptydy te mogą także modulować skład mikroflory jelitowej oraz motorykę i procesy trawienne. Ponadto pozytywnie wpływają na redukcję nasilenia dolegliwości w obrębie przewodu pokarmowego. Wśród wspomnianych bioaktywnych peptydów bardzo ważną rolę odgrywają laktoferycyna (powstająca na drodze przemian laktoferyny) oraz peptydy powstające z α 1-kazeiny i α 2-kazeiny. Charakteryzują się one aktywnością przeciwbakteryjną wobec wielu bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, w tym *Escherichia coli*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Salmonella* i *Staphylococcus*, oraz wobec grzybów drożdżopodobnych. Postuluje się, że fizjologiczne znaczenie peptydów antibakteryjnych mleka może być związane z modulowaniem składu mikroflory jelitowej⁶⁷.

Podsumowanie

Odpowiednia mikrobiota jelitowa jest gwarantem zdrowia i prawidłowego funkcjonowania organizmu. Ze względu na niekorzystny wpływ środowiska i nieodpowiedni styl życia coraz częściej dochodzi do zmian w profilu mikroorganizmów jelitowych. W przypadku zaburzeń w składzie i ilości bakterii przewodu pokarmowego wskazana jest terapia pro-



DO ZAPAMIĘTANIA

- Mikrobiota jelitowa, czyli mikroorganizmy przewodu pokarmowego, wpływa na szereg aspektów fizjologii człowieka, w tym:
 - aktywację i dojrzewanie układu odpornościowego oraz regulację odpowiedzi immunologicznej,
 - ochronę organizmu poprzez hamowanie rozwoju bakterii patogennych,
 - syntezę witamin (z grupy B, K) oraz enzymów trawiennych,
 - syntezę krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA).
- Skład mikrobioty jelitowej determinuje zdrowie lub chorobę gospodarza.
- Ważnym etapem rozwoju mikroflory, a co za tym idzie – programowania późniejszego zdrowia, jest okres noworodkowo-niemowlęcy.
- Nieodpowiednia kolonizacja jelit noworodka związana jest z ryzykiem wystąpienia licznych jednostek chorobowych, w tym alergii, atopii, martwiczego zapalenia jelit, cukrzycy typu 1, otyłości i innych.
- Przywracanie odpowiedniego profilu mikrobioty jelitowej za pomocą pre- i probiotyków jest obiecującą strategią terapeutyczną w profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych.

biotyczna i/lub prebiotyczna, dzięki której przywracany jest odpowiedni profil mikrobioty jelitowej. Taki schemat terapeutyczny jest bardzo pomocny przy redukowaniu objawów chorobowych, u podstaw których leży dysbioza jelitowa, w tym dolegliwościach ze strony przewodu pokarmowego, nawracających infekcjach, chorobach alergicznych, atopowym zapaleniu skóry, chorobach autoimmunologicznych, nieswoistych chorobach zapalnych jelit, zaburzeniach ze spektrum autyzmu, depresji i innych. **Podkreśla się, że ważnym ogniwem w programowaniu zdrowia jest wczesna i odpowiednia kolonizacja jelit noworodka.** Niestety, na skutek coraz liczniejszych cięć cesarskich bez wyraźnych wskazań medycznych, nadmiernego stosowania antybiotyków, zwiększonej sterylności życia (brak kontaktu ze zwierzętami, model rodziny z jednym dzieckiem) oraz nieodpowiedniej diety zaburzenia mikrobioty występują już na wczesnym etapie rozwoju. Może to skutkować długofalowymi konsekwencjami i rozwojem szeregu chorób, w tym cywilizacyjnych².

mgr Anna Bartnicka

✉ Instytut Mikrobiologii
60-129 Poznań,
ul. Sielska 10

anna.bartnicka@instytut-mikrobiologii.pl

Autorstwo manuskryptu:

Mirosława Gałęcka – analiza i interpretacja danych, merytoryczna recenzja artykułu, nadzór nad ostateczną wersją artykułu,

Anna Bartnicka – opracowanie koncepcji badania/pracy naukowej, zestawienie danych, analiza i interpretacja danych, napisanie artykułu,

Monika Szewc – zestawienie danych, analiza i interpretacja danych, napisanie artykułu,

Jan Mazela – analiza i interpretacja danych, merytoryczna recenzja artykułu, nadzór nad ostateczną wersją artykułu.

PIŚMIENICTWO

- 1 Kamada N, Seo SU, Chen GY i wsp. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat Rev Immunol* 2013;13:321-335.
- 2 Cukrowska B, Klewicka E. Programowanie mikrobiotyczne – homeostaza mikrobioty jelitowej a ryzyko chorób cywilizacyjnych. *Stand Med Pediatr* 2014;11:913-922.
- 3 Carroll IM, Threadgill DW, Threadgill DS. The gastrointestinal microbiome: a malleable, third genome of mammals. *Mamm Genome* 2009;20:395-403.
- 4 Olszewska J, Jagusztyn-Krynicka EK. Human Microbiome Project – Mikrobiota jelit oraz jej wpływ na fizjologię i zdrowie człowieka. *Post Mikrobiol* 2012;51:243-256.
- 5 Mroczńska M, Libudzisz Z, Gałęcka M i wsp. Mikroorganizmy jelitowe człowieka i ich aktywność metaboliczna. *Przegląd Gastroenterologiczny* 2011;6.
- 6 Savaiano DA. Lactose digestion from yogurt: mechanism and relevance. *Am J Clin Nutr* 2014;99(supl. 5):1251-1255.
- 7 O'Hara AM, Shanahan F. Gut microbiota: mining for therapeutic potential. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:274-284.
- 8 Cetin R, Develi S, Ozturk A i wsp. Human Colon Microbiota and Mucosal Immune System. *Appl Med Res* 2015;1:135-139.
- 9 Bartnicka A, Gałęcka M, Mazela J. Wpływ czynników prenatalnych i postnatalnych na mikrobiotę jelitową noworodków. *Stand Med Pediatr* 2016;13:112-116.
- 10 Jimenez E, Marín ML, Martín R i wsp. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol* 2008;159:187-193.
- 11 Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M i wsp. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:11971-11975.
- 12 Bager P, Wohlfahrt J, Westergaard T. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses. *Clin Exp Allergy* 2008;38:634-642.
- 13 Thavagnanam S, Fleming J, Bromley A i wsp. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 2008;38:629-633.
- 14 Cardwell CR, Stene LC, Joner G i wsp. Caesarean section is associated with an increased risk of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Diabetologia* 2008;51:726-735.
- 15 Huh SY, Rifas-Shiman SL, Zera CA i wsp. Delivery by caesarean section and risk of obesity in preschool age children: a prospective cohort study. *Arch Dis Child* 2012;97:610-616.
- 16 Musilova S, Rada V, Vlkova E i wsp. Beneficial effects of human milk oligosaccharides on gut microbiota. *Benef Microbes* 2014;5:273-283.
- 17 Fernández L, Langa S, Martín V i wsp. The microbiota of human milk in healthy women. *Cell Mol Biol* 2013;59:31-42.
- 18 Martín V, Maldonado-Barragán A, Moles L. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *J Hum Lact* 2012;28:36-44.
- 19 Tlaskalova-Hogenova H, Stepankova R, Hudcovic T i wsp. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol Lett* 2004;93:97-108.
- 20 MacDonald TT. The gut is still the biggest lymphoid organ in the body. *Mucosal Immunol* 2008;1:246-247.
- 21 Strzępa A, Szczepanik M. Wpływ naturalnej flory jelitowej na odpowiedź immunologiczną. *Postępy Hig Med Dosw* (online) 2013;67:908-920.
- 22 Cukrowska B, Czarnowska E. Wpływ probiotyków na układ immunologiczny. *Zakażenia* 2001;1:59-64.
- 23 Lauterbach R, Michalski P, Lauterbach JP. Probiotyki – możliwość zastosowania z punktu widzenia neonatologa. *Postępy neonatologii* 2015;21:29-34.
- 24 Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC i wsp. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut* 2014;63:559-566.
- 25 Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009;9:313-323.
- 26 Crabbe PA, Nash DR, Bazin H i wsp. Immuno-histochemical observations on lymphoid tissues from conventional and germ-free mice. *Lab Invest* 1970;22:448-457.
- 27 Hapfelmeier S, Lawson MA, Slack E i wsp. Reversible microbial colonization of germ-free mice reveals the dynamics of IgA immune responses. *Science* 2010;328:1705-1709.
- 28 Kozakova H, Schwarzer M, Tuckova L i wsp. Colonization of germ-free mice with a mixture of three lactobacillus strains enhances the integrity of gut mucosa and ameliorates allergic sensitization. *Cell Mol Immunol* 2015 [Epub ahead of print].
- 29 McMurtry VE, Gupta RW, Tran L i wsp. Bacterial diversity and Clostridia abundance decrease with increasing severity of necrotizing enterocolitis. *Microbiome* 2015;3:11.
- 30 Cenit MC, Olivares M, Codoñer-Franch P i wsp. Intestinal Microbiota and Celiac Disease: Cause, Consequence or Co-Evolution? *Nutrients* 2015;17:6900-6923.
- 31 Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011;474:307-317.
- 32 Lee KN, Lee OY. Intestinal microbiota in pathophysiology and management of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2014;20:8886-8897.
- 33 Bjorksten B, Naaber P, Sepp E i wsp. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy* 1999;29:342-446.
- 34 Rudzki L, Frank M, Szulc A i wsp. Od jelit do depresji – rola zaburzeń ciągłości bariery jelitowej i następcza aktywacja układu immunologicznego w zapalnej hipotezie depresji. *Neuropsychiatria i Neuropsychologia* 2012;7:2.
- 35 Björkstén B, Sepp E, Julge K i wsp. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:516-520.
- 36 Kalliomäki M, Kirjavainen P, Eerola E i wsp. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:129-134.
- 37 Kalliomäki M, Collado MC, Salminen S i wsp. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr* 2008;87:534-538.
- 38 Sjögren YM, Jenmalm MC, Fagerås-Böttcher M i wsp. Altered early infant gut flora in children developing allergy up to five years of age. *Clin Exp Allergy* 2009;39:518-526.
- 39 Macfabe D. Autism: metabolism, mitochondria, and the microbiome. *Glob Adv Health Med* 2013;2:52-66.



- ⁴⁰ Foster JA, McVey Neufeld KA. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends Neurosci* 2013;36:305-312.
- ⁴¹ Wasilewska J, Jarocka-Cyrta E, Kaczmarek M. Patogeneza zaburzeń przewodu pokarmowego u dzieci z autyzmem. *Pol Merk Lek* 2009;157:40-43.
- ⁴² Bolte ER. Autism and Clostridium tetani. *Med Hypotheses* 1998;51:133-144.
- ⁴³ Finegold SM, Molitoris D, Song Y i wsp. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis* 2002;35:6-16.
- ⁴⁴ Le Monnier A, Zahar JR, Barbut F. Update on Clostridium difficile infections. *Med Mal Infect* 2014;44:354-365.
- ⁴⁵ Kamińska B, Landowski B, Korzon M i wsp. Skład flory bakteryjnej izolowanej z jelita grubego dzieci w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit. *Pediatr Współ Gastroenterol Hepatol Żyw Dziecka* 2005;7:167-170.
- ⁴⁶ Heida FH, van Zoonen AG, Hulscher JB i wsp. A necrotizing enterocolitis-associated gut microbiota is already present in the meconium: results of a prospective study. *Clin Infect Dis* 2016 [Epub ahead of print].
- ⁴⁷ Wang Lv, Claus T, Christophersen CT, Michael JS i wsp. Low Relative Abundances of the Mucolytic Bacterium *Akkermansia muciniphila* and *Bifidobacterium* spp. In Feces of Children with Autism. *Appl Environ Microbiol* 2011;77:6718-6721.
- ⁴⁸ Hasio EY, McBride SW, Hsien S i wsp. Microbiota Modulate Behavioral and Physiological Abnormalities Associated with Neurodevelopmental Disorders. *Cell* 2013;155:1451-1463.
- ⁴⁹ Parracho HMRT, Gibson GR, Knott F i wsp. A double-blind, placebo-controlled, crossover-designed probiotic feeding study in children diagnosed with autistic spectrum disorders. *Int J Probiotics Prebiotics* 2010;2:69-74.
- ⁵⁰ Lowry CA, Hollis JH, de Vries A i wsp. Identification of an immune-responsive mesolimbocortical serotonergic system: Potential role in regulation of emotional behavior. *Neuroscience* 2007;11:756-772.
- ⁵¹ Dash S, Clarke G, Berk M i wsp. The gut microbiome and diet in psychiatry: focus on depression. *Curr Opin Psychiatry* 2015;28:1-6.
- ⁵² Żak-Gołąb A, Olszanecka-Glinianowicz M, Kocelak P i wsp. Rola flory jelitowej w patogenezie otyłości. *Postępy Hig Med Dośw* (online) 2014;68:84-90.
- ⁵³ DiBaise JK, Zhang H, Crowell MD i wsp. Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clin Proc* 2008;83:460-469.
- ⁵⁴ 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.
- ⁵⁵ Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA i wsp. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006;444:1027-1031.
- ⁵⁶ Olszanecka-Glinianowicz M, Chudek J, Kocelak P i wsp. Body fat changes and activity of tumor necrosis factor α system – a 5-year follow-up study. *Metabolism* 2011;60:531-536.
- ⁵⁷ Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 2005;115:1111-1119.
- ⁵⁸ Cani PD, Delzenne NM. Involvement of the gut microbiota in the development of low grade inflammation associated with obesity: focus on this neglected partner. *Acta Gastroenterol Belg* 2010;73:267-269.
- ⁵⁹ Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF i wsp. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:979-984.
- ⁶⁰ Ding S, Chi MM, Scull BP i wsp. High-fat diet. Bacteria interactions promote intestinal inflammation which precedes and correlates with obesity and insulin resistance in mouse. *PLoS One* 2010;5:e12191.
- ⁶¹ Lee HY, Park JH, Seok SH 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.
- ⁶² Ganguli K, Meng D, Rautava S i wsp. Probiotics prevent necrotizing enterocolitis by modulating enterocyte genes that regulate innate immune-mediated inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013;304:132-141.
- ⁶³ Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H i wsp. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357:1076-1079.
- ⁶⁴ Luoto R, Laitinen K, Nermes M i wsp. Impact of maternal probiotic-supplemented dietary counselling on pregnancy outcome and prenatal and postnatal growth: a double-blind, placebo-controlled study. *Br J Nutr* 2010;103:1792-1799.
- ⁶⁵ Luoto R, Kalliomäki M, Laitinen K i wsp. The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years. *Int J Obes (Lond)* 2010;34:1531-1537.
- ⁶⁶ Favier CF, de Vos WM, Akkermans AD. Development of bacterial and bifidobacterial communities in feces of newborn babies. *Anaerobe* 2003;9:219-229.
- ⁶⁷ Nagpal R, Behare P, Rana R i wsp. Bioactive peptides derived from milk proteins and their health beneficial potentials: an update. *Food Funct* 2011;2:18-27.