

## РОЛЬ КИШКОВОЇ МІКРОБІОТИ У РОЗВИТКУ ОЖИРІННЯ ТА ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

**С.М. Ткач, О.С. Тимошенко, А.А. Дорофесва**

*Український науково-технічний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, м. Київ*



**Ткач Сергій Михайлович**

*д-р мед. наук, проф.,*

*відділ профілактики та лікування цукрового діабету*

*01021, м. Київ, Кловський узвіз, 13-А*

*Тел./факс: (044) 253-66-26*

*E-mail: tkachsergio@yahoo.com*

Як відомо, однією з найактуальніших проблем охорони здоров'я в усьому світі є пандемія ожиріння. За прогнозами ВООЗ, у 2016 році приблизно 2,3 млрд людей матимуть надмірну масу тіла (індекс маси тіла – ІМТ = 25–29,9 кг/м<sup>2</sup>), а близько 700 млн страждатимуть на ожиріння (ІМТ >30 кг/м<sup>2</sup>) [45]. У гладких людей значно зростає ризик розвитку інсулінорезистентності (ІР) і цукрового діабету 2 типу, дисліпідемії та кардіоваскулярної патології, неалкогольної жирової хвороби печінки, пухлинних і багатьох інших захворювань [47].

Приблизно в половині всіх гладких пацієнтів розвивається метаболічний синдром (МС), тісно асоційований з вісцеральним (абдомінальним) ожирінням, проте видалення підшкірної або абдомінальної жирової клітковини не супроводжується підвищенням чутливості до інсуліну [21, 25]. Незважаючи на велику кількість проведених досліджень, механізми розвитку ІР у людей з ожирінням поки вивчені недостатньо. Результати експериментальних наукових робіт свідчать про те, що вагомий внесок у розвиток ІР у гладких людей робить кишкова мікробіота (КМ), а точніше, її дисбаланс, який отримав назву кишкового дисбіозу [47].

Широкі метагеномні асоціативні дослідження виявили значні відмінності в складі КМ у осіб з наявністю чи відсутністю ожиріння і метаболічних порушень [11, 12, 19, 20, 23]. Встановлено, що зміни КМ призводять до довгострокових змін запальної

відповіді у пацієнтів з ожирінням, а бактеріальні ендотоксини, що виділяються, активують Toll-подібні рецептори, які розпізнають ліпополісахариди (ЛПС) бактерій, що призводить до активації вродженої імунної відповіді і зумовлює розвиток ІР [10, 13–15]. Поряд з високим рівнем запальних адипоцитокінів однією з причин розвитку хронічного низькоінтенсивного запального стану при МС є ендотоксинемія, що виникає внаслідок кишкового дисбіозу, порушень кишкового бар'єру, підвищення кишкової проникності та транслокації кишкових бактерій у системний кровотік [1, 10]. Дані декількох досліджень продемонстрували збільшення рівня ліпополісахаридзв'язуючого протеїну в крові гладких пацієнтів, а трансплантація фекальної мікробіоти від худих донорів супроводжувалася вираженим підвищенням чутливості до інсуліну [7, 8, 14, 15, 38, 49]. Отримані дані вказують на існування безсумнівного тісного взаємозв'язку між КМ, бактеріальною транслокацією та метаболізмом господаря.

Останні дослідження із застосуванням молекулярно-генетичних методів (секвенування генів 16S рибосомальної РНК ампліфікованих бактеріальних нуклеїнових кислот, отриманих з фекалій або біоптатів слизової оболонки кишечника) продемонстрували неймовірну складність складу мікробіоти кишечника людини, що складається з більш ніж 1000 філотипів, з яких 80% досі не культивовано [20, 22]. Підраховано, що КМ людини,

яку нині розглядають як самостійний «четвертий» орган травної системи, містить не менше  $10^{14}$  клітин, що в 10 разів перевищує кількість клітин людського тіла [12, 20]. Кількість мікробів коливається від  $10^1$ – $10^3$  бактерій/грам вмісту в шлунку і дванадцятипалій кишці до  $10^{11}$ – $10^{12}$  бактерій/грам вмісту в товстому кишечнику [12, 37]. У 2010 р. був розшифрований генний каталог кишкового мікробіома 124 європейських жителів, який склав понад 3,3 млн генів, тобто загальний геном кишкової мікробіоти перевершує геном людини приблизно в 150 разів [27, 30, 40].

Всю КМ можна поділити на три сімейства: 1) еукаріоти, які містять ядерну мембрану, що відокремлює геном від клітинного матеріалу; 2) бактерії; 3) археа, які відносяться до прокариотів, позбавлених ДНК-вмісного ядра. Домінуючим сімейством КМ є бактерії. Серед 10 бактеріальних типів, виявлених в кишечнику, переважають *Firmicutes* (найбільш поширений філотип) і *Bacteroidetes*, на які припадає понад 90% всіх бактерій, а серед археа домінує метаногенний *Methanobrevibacter smithii*, що споживає водень. На сьогодні всю КМ людини запропоновано ділити на три чітких кластера, названих енетротипами, які складаються з різних груп видів і спільно формують склад кишкової «спільноти» [20, 30, 40, 50]. Ці енетротипи не залежать від таких характеристик пацієнта, як національність, стать або вік, хоча ці висновки поки базуються на відносно невеликому числі спостережень.

Нормальна КМ виконує три основні найважливіші функції: 1) метаболічну (переварювання різних харчових інгредієнтів і синтез нових речовин, що впливають на метаболізм макроорганізму в цілому); 2) захисну (зміцнення кишкового бар'єру за рахунок зміцнення міжклітинних з'єднань, збільшення синтезу муцину і посилення процесів регенерації епітелію); 3) імуногенну (постійна взаємодія з імуною системою кишечника, регуляція імунової відповіді і формування імунологічної толерантності) [39]. В результаті багатьох зовнішніх і внутрішніх факторів і виникаючих змін складу КМ всі ці функції можуть порушуватися.

**Метаболічні та імуногенні ефекти кишкової мікробіоти.** КМ бере активну участь в асиміляції їжі, у зв'язку з чим вона може розглядатися як самостійний метаболічний «орган». Насамперед, КМ здатна розщеплювати рослинні полісахариди, які не перетравлюються ферментними системами людини,

такі як коротколанцюгові жирні кислоти (КЛЖК) – ацетат, бутират і пропіонат. Вони є важливим енергетичним ресурсом для організму господаря, забезпечують більше 10% його енергопотреби і впливають на багато функцій, включаючи імунітет. Наприклад, бутират посилює регенерацію і знижує проліферацію кишкового епітелію, а також модифікує продукцію цитокінів Th-клітинами і зміцнює щільність міжклітинних з'єднань, що, в свою чергу, перешкоджає проникненню мікрофлори і запобігає аберантній запальній відповіді. Продукція ацетату надає протизапального ефекту завдяки впливу на рецептор GPR43 і посилює бар'єрні функції епітелію. Показано також епігенетичний вплив ацетату і бутирату [15, 20, 26, 46].

Так, зокрема, F. Backhed і співавт. у серії експериментів на нормальних і генетично модифікованих стерильних мишах продемонстрували можливі механізми впливу КМ на енергетичні процеси і жировий обмін організму господаря [4]. Колонізація стерильних гнотобіонтів мікробіотою звичайних мишей, що споживали на 29% менше стандартного корму, але мали значно більшу масу жирової тканини (на 42%), призводила до швидкого наростання у стерильних гнотобіонтів жирової маси (на 57%), хоча при цьому паралельно відзначалося зниження споживання корму (на 27%). Дослідження показників активності циклу трикарбонових кислот у тканинах м'язів і печінки мишей показало значне їх підвищення після колонізації, що свідчило про активацію обмінних процесів. Крім того, після колонізації пропорційно наростанню жирової маси підвищувався рівень лептину (гормону, що продукується жировою тканиною і відображає вміст жиру в адипоцитах), який знижує потребу в їжі і підвищує енерговитрати. У крові відзначалося підвищення рівня глюкози та інсуліну, а також наростала ІР, яка визначалась по тестах толерантності до глюкози та інсуліну. Крім того, в 2,3 раза збільшувався рівень тригліцеридів у печінці, відзначалося збільшення ацетил-коензим-А-карбоксилази (ACC1) і синтетази (Fas), що сприяють синтезу жирних кислот (ЖК) *de novo*, а також було виявлено підвищення чинників транскрипції ChREBP і SREBP-1, що регулюють ліпогенетичну відповідь гепатоцитів на інсулін і глюкозу.

Проведені дослідження показали, що КМ забезпечує розщеплення рослинних полісахаридів, усмоктування цукрів у кишечнику і надходження їх у печінку, а також посилює процеси ліпогенезу в

печінці за рахунок активації ліпогенних ферментів. Ключовим регулятором звільнення ЖК з багатих ТГ ліпопротеїнів у м'язах, серці і жировій тканині є ліпопротеїназа (ЛПЛ). Збільшення активності ЛПЛ посилює захоплення ЖК клітинами і накопичення ТГ в адипоцитах [11, 12]. Дослідження показали, що після колонізації мишей активність ЛПЛ у жировій тканині підвищувалася на 122%, а в серці – на 99%. Було встановлено, що інгібітором ЛПЛ у бурому і білому жирі є Fiaf (індукований голодом адипоцитарний фактор або ангіопоетин-подібний білок). Колонізація мишей сприяла зниженню активності Fiaf у кишечнику (але не в печінці і білому жирі) і відображала процес дозрівання епітелію тонкої кишки під впливом КМ. Ці дані свідчать про те, що КМ посилює опосередковане ЛПЛ включення ТГ в адипоцити за рахунок пригнічення її інгібітора Fiaf [32].

Подальші дослідження дозволили встановити ще два механізми, які безпосередньо впливають на метаболізм ЖК [5]. По-перше, було встановлено, що підвищення рівня Fiaf стимулює продукцію коактиватора PPAR- $\gamma$  (*peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$* ), який посилює експресію генів, що контролюють окислення ЖК у мітохондріях [14, 23, 32]. По-друге, були встановлені особливості дії АМФ-активованої протеїнкінази (АМПК) – ферменту, який функціонує як датчик витрати палива, регулюючи енергетичний статус клітини [29]. АМПК активується при збільшенні співвідношення АМФ/АТФ у клітині, призводячи до зменшення споживання АТФ за рахунок пригнічення енерговитратного анаболічного шляху, і збільшує АТФ-генеруючий катаболічний шлях (окислення ЖК). Підвищення активності АМПК (наприклад, при голодуванні, а також у гнотобіонтів) супроводжується посиленням окислення ЖК у скелетних м'язах та печінці і створює велику залежність від надходження жирів. Заселення кишечника мікрофлорою зсуває енергообмін у бік вуглеводів, як бажаних для бактерій джерел енергії. Ці дані підтвердили, що КМ може впливати на обидві сторони енергетичного балансу організму: отримання енергії з їжі, а також її споживання і створення запасів енергії [12].

В інших дослідженнях було виявлено особливості генотипу КМ у генетично схильних до ожиріння лептин-дефіцитних мишей. Зокрема, були виявлені гени, що кодують ферменти, які розщеплюють важкозасвоювані полісахариди. У мишей з ожирінням відзначалося збільшення продуктів

цієї ферментації (ацетату і бутирату) в кишечнику і зменшення втрат калорій з калом [44]. Пересадка мікрофлори від мишей з ожирінням звичайним гнотобіонтам супроводжувалася більшою екстракцією калорій з їжі, ніж у таких же тварин, колонізованих мікрофлорою від звичайних мишей. Так, уже через 2 тижні в перших спостерігалася чітка тенденція до більш швидкої динаміки ваги і накопичення жирової тканини (47% проти 27%), а при рівній кількості корму відмінність у надходженні калорій становила до 20% калоражу [49]. Ці дані ще раз підтвердили участь кишкової мікрофлори в енергетичному обміні і значення мікробної складової в загальному патогенезі ожиріння [48].

Таким чином, індивідуальні відмінності енергообміну, які спостерігаються в експериментальних тварин і людей, дозволили пояснити, чому багато пацієнтів страждають ожирінням, незважаючи на відносно невелике споживання їжі. Це, зокрема, може бути наслідком індивідуального складу кишкового мікробіома, певні характеристики якого можуть призводити до ожиріння.

Склад КМ перебуває під впливом місцевої імунної системи. КМ постійно взаємодіє з імунною системою кишечника, зокрема через систему епітеліальних Toll-подібних рецепторів (Toll-like receptors, TLR), кожен з яких розпізнає певні «патоген-асоційовані молекулярні патерни» (ПАМП). Сімейство Toll-подібних рецепторів включає 11 різних рецепторів, специфічних для різних ПАМП. Так, TLR4 розпізнають ліпополісахариди аеробних грамнегативних бактерій, TLR5 здатний зв'язувати бактеріальні протеїни, відомі як флагеліни, а інші TLR активуються мікробними ліпопротеїнами, РНК або ДНК [36, 37].

Метаболічні та імунні процеси тісно взаємопов'язані. Так, миші з дефектом TLR4 стійкі до розвитку хронічного запалення та ІР, незважаючи на вживання великої кількості жирів, що підтверджує важливу роль ЛПС і грамнегативної мікрофлори в генезі МС. TLR5 є трансмембранним протеїном, широко представленим в кишкової слизовій оболонці, здатним зв'язувати флагеліни. Дефіцит даного гена (T5KO) у мишей викликає розвиток фенотипу, який характеризується зростанням жирової маси, рівня глюкози та ІР, асоціюючись з високими рівнями плазматичних прозапальних цитокінів. Зменшення кишкового бактеріального навантаження при використанні антибіотиків широкого спектру дії коригує метаболічний синдром

у T5KO-мишей. Трансплантація кишкової мікробіоти від T5KO-мишей стерильним мишам дикого типу сприяє прояву T5KO-фенотипу, включаючи розвиток ожиріння, гіперглікемії, IP та системної прозапальної реакції [4, 20, 48]. Ці дані підтверджують можливість впливу імунної системи на метаболізм через КМ.

Комплексна взаємодія між бактеріями і поверхнею слизової оболонки необхідна не тільки для дозрівання імунної системи, а й для адекватної трофіки і забезпечення цілісності кишкового бар'єра. Як зазначалося вище, ферментація вуглеводів сприяє утворенню КЛЖК, що покриває частину енергетичних потреб організму (приблизно 5–15%) і впливає на диференціацію і проліферацію клітин слизової оболонки, всмоктування заліза і вітамінів. КМ бере участь також у метаболізмі пептидів. Протеолітична ферментація зумовлює утворення поліфенолів з протизапальними ефектами, в той час як анаеробний метаболізм – формування потенційно токсичних субстанцій, таких як аміак, аміни, фенол і індол. КМ сама по собі є невід'ємною частиною «кишкового бар'єра», оскільки пригнічує приживлення і ріст патогенної флори шляхом конкурентної боротьби за нутрієнти, продукції антимікробних субстанцій та зменшення вільної поверхні для прикріплення ентероінвазивних бактерій [36–38].

**Кишкова мікробіота і хронічне системне запалення.** Сьогодні не викликає сумнівів, що хронічне системне запалення низького ступеня активності є основною причиною розвитку IP. Ожиріння і IP супроводжуються підвищенням рівня маркерів запалення в жировій тканині і підвищенням у крові рівня прозапальних цитокінів, таких як IL1, IL6, IL17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ . Численні дослідження присвячені вивченню впливу системного запалення на метаболізм глюкози і ліпідів, однак мало що відомо про його тригери. Cani et al. висунули гіпотезу, що ЛПС, які продукуються грамнегативними бактеріями кишкової мікрофлори, можуть виступати тригерами, відповідальними за розвиток запалення, IP і набирання маси тіла [10–13]. ЛПС здатні активувати секрецію прозапальних цитокінів шляхом впливу на природні імунні клітини, взаємодіючи з комплексом mCD14 і TLR4. Усунення CD14 усуває і прояви МС.

Cani et al. запропонували термін «метаболічна ендотоксемія» для визначення запального стану, який часто асоціюється з метаболічним синдромом [10]. Експериментально було показано, що дієта з високим вмістом жирів може підвищувати рівень

циркулюючих ЛПС і що ендотоксемія, індукована хронічним надходженням ЛПС, може призводити до діабету, ожиріння і печінкової IP. Надходження ЛПС також підвищує загальну масу печінки і вміст тригліцеридів у печінковій паренхімі. Дієта з високим вмістом жирів зумовлює підвищення рівня циркулюючих ЛПС завдяки її впливу на відносний склад КМ, що сприяє збільшенню кишкової проникності та зростанню транспорту ЛПС. Дивно, але дієта з високим вмістом жирів призводить до значного зниження домінуючих грамнегативних видів *Bacteroidetes* поряд із зменшенням домінуючих видів грампозитивних бактерій. Однак, серед грампозитивних штамів кількість *Bifidobacteria*, які сприяють зниженню кишкового ЛПС, також знижується [35, 47].

Парацелюлярний транспорт ЛПС і ендотоксинемія при хронічному запаленні і порушенні захисного кишкового бар'єра посилюються. Так, у мишей з генетично детермінованим ожирінням спостерігається зниження електричного опору кишкового епітелію і рівня білків, що забезпечують щільність міжклітинних з'єднань (оклюдину і зонуліну-1), причому ці зміни корелюють з рівнем ендотоксемії [14–15]. Призначення антибіотиків і пребіотиків експериментальним тваринам супроводжувалося поліпшенням показників проникності кишкового епітелію, зниженням рівня ЛПС, прозапальних цитокінів в крові і ознак стеатогепатиту. Подібні результати були отримані і в клінічних спостереженнях. Зокрема, у хворих на цукровий діабет 2 типу виявлявся більш високий рівень ендотоксинемії, ніж у здорових [13]. Лікування пацієнтів антибіотиком, що специфічно пригнічує грамнегативні мікроорганізми (поліміксин В), редукувало експресію ЛПС і прояви стеатогепатиту.

**Особливості складу кишкової мікробіоти при ожирінні та інсулінорезистентності.** Як зазначалося вище, перші докази взаємозв'язку зміненої мікробіоти і метаболічних розладів, у тому числі ожиріння і IP, були отримані в дослідженнях із стерильними тваринами. Зростання мишей у стерильних умовах вимагає більшої кількості калорій порівняно з таким у звичайних умовах з метою підтримання маси тіла. Незважаючи на це, у них спостерігається менший вміст жиру в організмі. З іншого боку, колонізація стерильних мишей нормальною кишковою мікрофлорою призводить до поєданого набирання маси і жирової тканини, що наводить на думку про можливість бактерій



сприяти максимальному вилученню калорій з нутрієнтів, в тому числі з неперетравлюваних волокон [4, 5].

Були також виявлені кількісні і якісні відмінності в складі бактеріальної флори у мишей з нормальною масою тіла й ожирінням. Кишкова мікробіота ссавців представлена бактеріями, що переважно належать до одного з чотирьох типів: *Bacteroidetes* і *Proteobacteria* (грамнегативні штами), *Actinobacteria* і *Firmicutes* (грампозитивні штами) [50]. Встановлено, що у мишей з ожирінням спостерігається значне зниження бактерій, що належать до сімейства *Bacteroidetes* (на 50%) і пропорційне збільшення *Firmicutes* і метаногенних *Archaea* [23, 35, 36, 44, 47]. Таке порушене співвідношення викликає підвищений кишковий внутрішньопросвітний гідроліз неперетравлюваних полісахаридів, таких як  $\beta$ -фруктани, а також підвищує активність транспортних протеїнів, таких як фосфотрансфераза. На додачу, надлишок метаногенних бактерій, здатних використовувати водень для продукції метану, сприяє збереженню низького парціального тиску водню, що оптимізує процеси бактеріальної ферментації [37].

При обстеженні пацієнтів з ожирінням Ley et al. виявили, що їх кишкова мікробіота також характеризується зниженням *Bacteroidetes* і підвищенням *Firmicutes*, чого не спостерігається у людей без ожиріння в контролі. Відмова від їжі може чинити модулюючий вплив на склад кишкової мікробіоти, що було показано у пацієнтів, що перебували на низькокалорійній дієті і в яких спостерігалось підвищення вмісту *Bacteroidetes*. Асоційована з цим зміна в співвідношенні *Bacteroidetes/Firmicutes* корелювала з відсотком втрати маси тіла, проте не була пов'язана з калорійністю дієти [35, 36].

Тим не менш, існують і суперечливі дані, отримані в інших дослідженнях. Так, Schweirtz et al. виявили підвищення вмісту *Bacteroidetes* у волонтерів з ожирінням і надмірною масою тіла в порівнянні з людьми з нормальною масою тіла і зниження співвідношення *Bacteroidetes/Firmicutes* із 3,3 у струнких до 1,2 при ожирінні. При цьому також відзначалося зниження метанопроцентів (*Methanobrevibacter* з 8,0 до 6,2) і біфідобактерій (з 8,7 до 8,3). Ці автори також повідомили, що фекальна концентрація КЛЖК була значно вище у досліджуваних з ожирінням і надмірною масою тіла, ніж у волонтерів з нормальною масою тіла [44]. У недавній публікації Vrieze et al. у досліджуваних

з ожирінням було виявлена знижена кількість *Clostridium*, підвищена кількість *Bacteroidetes* і менша різноманітність мікрофлори. Трансплантація флори від донорів з нормальною масою тіла пацієнтам чоловічої статі з метаболічним синдромом асоціювалася з підвищенням чутливості до інсуліну і різноманіття мікрофлори [49]. Отримані дані вказують на значення не стільки окремих представників КМ, скільки симбіозів. Кінцевим результатом змінених біоценозів при надмірній масі тіла та ожирінні є збільшення добування енергії з їжі.

Zhang et al. виявили, що *Prevotella*, які належать до *Bacteroidetes*, широко представлені у пацієнтів з ожирінням, проте значної різниці в порівняльному надлишку загальної кількості *Bacteroidetes* у пацієнтів з ожирінням і нормальною масою тіла виявлено не було. Оскільки в пацієнтів з ожирінням широко представлені метаногени *Archaea*, то це наводить на думку про можливу роль взаємодії між *Bacteroidetes* і *Archaea* в продукції КЛЖК. Роль метаногенів, імовірно, полягає в утилізації  $H_2$ , який є результатом життєдіяльності  $H_2$ -продукуючих бактерій, які, можливо, належать до *Prevotella*, що, в свою чергу, сприяє оптимізації бактеріальних ферментативних процесів [39, 50].

Встановлено також, що кількість *Akkermansia muciniphila* – муцин-руйнуючої пропіонат-продукуючої бактерії з роду *Verrucomicrobia*, була обернено пропорційна масі тіла [24]. Цікаво, що у мишей з аліментарним ожирінням вміст *Akkermansia muciniphila* був знижений [35], в той час як у мишей після шунтуючої операції на шлунку вміст бактерії збільшувався порівняно з передопераційною кількістю. Багата пребіотиками дієта, що містить олігофруктозу – головну складову частину слизового шару, яка активує келихоподібні клітини кишечника, сприяла збільшенню концентрації *Akkermansia muciniphila* [35, 39].

Порівняно нещодавно вчені проаналізували філогенетичний склад 39 зразків калу представників шести національностей [50]. Дане дослідження підтвердило, що *Bacteroidetes* і *Firmicutes* є домінуючим типом людської кишкової мікрофлори, але не було виявлено кореляції між індексом маси тіла і співвідношенням *Bacteroidetes/Firmicutes*. Автори виявили в складі кишкової мікробіоти три окремих кластери, що були позначені, як «ентеротипи» на основі різного вмісту одного з трьох видів: *Bacteroidetes*, *Prevotella* і *Ruminococcus*. Функціональний аналіз показав, що функції і видовий склад окремих ентеротипів приблизно

тотожні. Ентеротип 1 характеризується потужною ферментативною і цукролітичною активністю, отриманням енергії головним чином з вуглеводів і протеїнів. Функціональний аналіз ентеротипу 2 виявив розщеплення мукоглікопротеїнів як найбільш розвинену функцію, в той час як ентеротип 3 експресує муциноруйнуючі ферменти і мембранні переносники цукру. Не було виявлено взаємозв'язку між різними ентеротипами і властивостями організму господаря, однак встановлено певну кореляцію між індексом маси тіла господаря та експресією АТФазного комплексу, що свідчить про важливішу роль метагеномічних функціональних біомаркерів, ніж філогенетичних.

Проведені дослідження показали також асоційовані зміни в співвідношенні *Bacteroidetes* і *Firmicutes* на тлі ожиріння та метаболічного синдрому. У двох незалежних повногеномних асоціативних дослідженнях Qin і співавт. (виконане в Китаї) і Karlsson та співавт. (виконане в Європі) повідомили про метагеномні відмінності між когортами пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу і групою здорових осіб [30, 41]. Кластери геномних послідовностей використовувалися як характерні особливості конкретних груп бактерій, кожне дослідження дозволило незалежно визначити, що КМ осіб з цукровим діабетом 2 типу має більш низьку кількість бутират-продукуючих *Clostridiales* (*Roseburia* і *Faecalibacterium prausnitzii*) і більш високу – бутират-непродукуючих *Clostridiales*, а також таких патогенних мікроорганізмів, як *Clostridium clostridioforme* [2, 6, 30, 41].

Інші певні взаємозв'язки в наведених двох дослідженнях відрізнялися. Так, Karlsson та співавт. [30] у когорті пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу виявили збільшення частки *Lactobacillus gasseri* і *Streptococcus mutans* (коменсальні бактерії порожнини рота і верхніх відділів кишечника), тоді як Qin і співавт. [41] спостерігали збільшення частки *Escherichia coli*, які продукують ЛПС і викликають ендотоксемію. Ці дослідження викликали підвищення інтересу до зв'язку між цукровим діабетом 2 типу і зниженням продукції бутирату, з огляду на те, що дієти, збагачені бутиратом, як було показано раніше, сприяли запобіганню виникненню та розвитку ІР у мишей з ожирінням на тлі висококалорійної дієти і збільшення енерговитрат (38). Результати, отримані в дослідженнях щодо ожиріння на тваринних моделях і в людини, дозволили припустити, що скорочення продукції бутирату кишковою мікробіотою бере участь у розвитку резистентності до інсуліну.

**Терапевтичний потенціал кишкової мікробіоти при ожирінні та інсулінорезистентності.** Велика кількість доказів того, що здорова кишкова мікробіота необхідна для підтримання здоров'я людини і захисту від захворювань зумовила значний інтерес до її терапевтичного потенціалу. Модифікація КМ нині розглядається як один з перспективних методів профілактики і лікування багатьох захворювань, в тому числі ожиріння та ІР [16, 31]. Існує кілька способів модифікації КМ, а саме дієта, застосування пребіотиків, пробіотиків і синбіотиків, а також трансплантація фекальної мікробіоти (ТФМ).

**Модифікація дієти.** Найбільш яскравим і, ймовірно, одним з найважливіших факторів, як і раніше, є їжа, споживана людиною. Характер харчування формує мікробіоту і епітелій кишечника, починаючи від самого народження, а систематичні зміни в складі харчового раціону можуть призводити до зміни кишкового мікробіома. Так, істотні відмінності, асоційовані з характером харчування, були виявлені в порівняльному дослідженні кишкової мікробіоти дітей з африканської країни Буркіна Фасо, які ведуть первісний спосіб життя і харчуються багатою харчовими волокнами їжею, і італійських дітей, які отримують традиційну західну дієту. У дітей Буркіна Фасо домінуючим класом бактерій є *Bacteroidetes*, особливо *Prevotella* і *Xylanibacter*, в той час як у італійських дітей, в харчуванні яких переважають жири і білки, значно більше *Firmicutes* [18]. Крім того, у дітей із сільських африканських районів порівняно з дітьми з міст Європи спостерігалось значно більше мікробне різноманіття мікробіоти фекалій, що свідчить про згубний вплив західної дієти на стан мікробіоти.

Цілісні зерна злаків, стійкий крохмаль і дієта з низьким вмістом харчових волокон значно змінюють мікробіоту, так само як і багатодієтичні пребіотики, в тому числі олігофруктоза, лактулоза, інулін і арабіноксиланолігосахариди. Оліго-, ди-, моносахариди та поліоли (FODMAPs), які ферментуються і погано абсорбуються, включають в себе безліч речовин, забезпечують просування бактерій від клубової кишки до товстого кишечника. Дієта з великою кількістю харчових волокон змінює мікробіоту шляхом прискорення часу кишкового транзиту і збільшення виробництва КЛЖК, зокрема пропіонової та масляної кислот. Ацетат, що переважає у вмісті товстої кишки, має вираженіший інгібуючий вплив, у той час як пропіонат і бутират стимулюють моторику й активують пропульсивну

активність клубової кишки, забезпечуючи просування бактерій від клубової кишки до товстого кишечника.

Модифікація дієти зумовлює якісні та кількісні зміни у забезпеченні мікробіоти товстого кишечника поживними речовинами. Зміна мікробіоти до поліпшеного складу внаслідок модифікації дієти може виявитися стратегічною терапевтичною мішенню як при захворюваннях кишечника, так і інших патологіях, наприклад ожирінні та метаболічних хворобах [31]. Так, у пацієнтів з ожирінням часто виявляється переважання *Firmicutes* над *Bacteroidetes*, що, ймовірно, частково зумовлено особливостями харчування. У цьому контексті «перезавантаження» мікробіоти нині розглядається як необхідна передумова для зниження рівня маркерів запалення і поліпшення перебігу метаболічних захворювань.

**Пребіотики** – це продукти, які при прийомі всередину стимулюють зростання корисних бактерій, уже присутніх в організмі господаря, що призводить до позитивного впливу на здоров'я [17, 42]. Цю функцію зазвичай виконують різні фруктоолігосахариди (ФОС). В експериментальних дослідженнях на щурах було показано, що додавання ФОС редукувало споживання енергії і апетит, зменшувало надмірну масу тіла і масу жирової тканини. При цьому спостерігалася зміна рівня ендогенних кишкових пептидів, що регулюють апетит і метаболізм. У дослідженні Cani P.D. і співавт. було продемонстровано зниження ендотоксемії у мишей, які отримували ФОС, причому ступінь зниження мав зворотну кореляцію з наростаючим рівнем біфідобактерій в кишечнику цих тварин [15]. Кількість біфідобактерій корелювала також із поліпшенням толерантності до глюкози, індукованої глюкозою секрецією інсуліну і загальним рівнем запальної активності.

Одним з перших вивчених пребіотиків була лактулоза, яка є проносним, що не абсорбується і підвищує концентрацію в калі *Bifidobacterium spp.* Ще одним пребіотиком є інулін, який сприяє збільшенню кількості різних видів *Bifidobacterium* у мишей з аліментарним ожирінням і відповідному зниженню рівня ожиріння, що, найімовірніше, було опосередковано підвищенням кількості кишкових КЛЖК [46]. Ідентичний вплив на масу тіла і вуглеводний або ліпідний обмін відзначався у мишей з ожирінням після збагачення дієти чистим бутиратом. Крім того, харчові жири мають різний вплив на кишкову мікробіоту; дієта з високим

вмістом жирів призводить до зростання кількості *Firmicutes* і *Proteobacteria* й, отже, вираженість запалення, ймовірно, протягом 24 годин після зміни складу дієти [39].

**Пробіотики** – живі мікроорганізми, які при введенні в достатній кількості приносять користь для здоров'я організму господаря [42]. Найчастіше використовуваними пробіотиками є лактобацили і біфідобактерії. Пробіотики можуть бути перспективними в лікуванні хворих, що страждають на ожиріння, хоча не всі наявні на сьогодні пробіотичні штами можуть використовуватися з рівною ефективністю. Sonnenburg J.L. і співавт. колонізували гнотобіонтів *B. thetaiotaomicron* і *Bifidobacterium longum*, що в результаті знижувало надходження енергії, причому це не залежало від генотипу господаря. Martin F.P.J. і співавт. провели дослідження на гнотобіонтах, колонізованих людською дитячою мікрофлорою з додатковим призначенням пробіотиків, і показали, що пробіотики впливають на організм господаря, а зміни мікробіоти при цьому супроводжуються метаболічними змінами в багатьох тканинах, впливаючи на енергетичний, жировий та амінокислотний обміни [33, 43]. Систематичне вживання йогурту, що містить *L. gasseri*, протягом 12 тижнів сприяло зниженню маси тіла в пацієнтів з ожирінням [28]. Перинатальне призначення вагітним і годуючим матерям *L. rhamnosus GG* запобігало набиранию надмірної маси тіла в перші 3 роки життя дитини, але не мало значення в подальшому [34]. Таким чином, застосування про- та пребіотиків у профілактиці та лікуванні ожиріння та ІР демонструє обнадійливі, хоча й не завжди переконливі результати.

**Трансплантація фекальна мікробна (ТФМ).** ТФМ – одномоментна терапевтична процедура, що дозволяє швидко відновити нормальний склад бактеріальної флори в товстій кишці. ТФМ є найефективнішим способом лікування рецидивуючого або резистентного *Clostridium difficile*-індукованого коліту. Успіх процедури в численних дослідженнях зумовив її широке застосування й при інших захворюваннях, зокрема таких метаболічних розладах, як цукровий діабет і ожиріння [3, 8, 9, 22].

У 2008 р. вчені з Чиказького університету виявили, що при заселенні стерильного кишечника мишей бактеріями, що викликають автоімунний процес, відбувається пошкодження клітин підшлункової залози, що виробляють інсулін, і у мишей виникає

цукровий діабет 1 типу. Коли проводили заміну бактерій кишечника мишей іншою мікрофлорою, що живе також у кишечнику людини, в більшості тварин відбувалося одужання від діабету. У грудні 2011 р. група бразильських дослідників опублікувала результати досліджень, які ще раз показали, наскільки бактерії, що живуть у кишечнику, можуть впливати на імунну систему організму і виникнення діабету. Вони взяли лінію мишей з інсулінорезистентністю і за допомогою ТФМ замінили їх бактеріальну флору на іншу, в результаті чого у мишей зникли ознаки діабету й вони стали нормально реагувати на інсулін. Вважається, що ТФМ від худорлявих донорів значно підвищує чутливість до інсуліну, найімовірніше, за рахунок підвищення концентрації бактерій кишечника, які продукують бутират [31, 39, 49].

Таким чином, роль кишкової мікробіоти в патогенезі інсулінорезистентності та ожиріння нині інтенсивно обговорюється і є об'єктом для численних наукових досліджень. Не викликає сумнівів, що між кишковою мікробіотою, енергетичним гомеостазом, наявністю ожиріння і інсулінорезистентністю існує тісний взаємозв'язок. Кишкова мікробіота струнких і здорових людей за своїм складом істотно відрізняється, що було продемонстровано як в експериментах на тваринах, так і в клінічних спостереженнях за людьми. Хоча наші нинішні знання поки не дозволяють нам ідентифікувати специфічні типи КМ як причину ожиріння і метаболічного синдрому, однак наявні докази свідчать про важливу роль бактеріальної ендотоксинемії в розвитку сповільненого системного запалення при інсулінорезистентності, а також про те, що різна специфічна активність КМ може впливати на абсорбцію і добування енергії з нутрієнтів. Цілеспрямована модифікація КМ за допомогою змін дієти, застосування пре- і пробіотиків або ТФМ сьогодні розглядається як перспективна терапевтична стратегія в профілактиці і лікуванні метаболічних розладів. Проте для того, аби довести, що конкретні порушення КМ при ожирінні та інсулінорезистентності є важливим чинником патогенезу і однією з терапевтичних мішеней, необхідні подальші дослідження.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Amar J., Burcelin R., Ruidavets J.B., et al.* Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am J Clin Nutr* 2008;87:1219–1223.
2. *Amar J., Serino M., Lange C., et al;* D.E.S.I.R. Study Group. Involvement of tissue bacteria in the onset of diabetes in humans: evidence for a concept. *Diabetologia* 2011; 54:3055–3061.
3. *Aroniadis O.C., Brandt L.J.* Fecal microbiota transplantation: past, present and future. *Curr Opin Gastroenterol.* 2013;29:79–84.
4. *Backhed F., et al.* The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:15718–15723.
5. *Backhed F., et al.* Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:979–984.
6. *Balamurugan R., George G., Kabeerdoss J., Hepsiba J., Chandragunasekaran A.M., Ramakrishna B.S.* Quantitative differences in intestinal *Faecalibacterium prausnitzii* in obese Indian children. *BrJ Nutr* 2010;103:335–38.
7. *Borody T.J., Khoruts A.* Fecal microbiota transplantation and emerging applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9:88–96.
8. *Borody T.J., Campbell J.* Fecal microbiota transplantation: current status and future directions. *Exp Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5:653–655.
9. *Brandt L.J.* American Journal of Gastroenterology lecture: intestinal microbiota and the role of fecal microbiota transplant (FMT) in treatment of *C. difficile* infection. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:177–185.
10. *Cani P.D., et al.* Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007;56:1761–1772.
11. *Cani P.D., Delzenne N.M.* Gut microflora as a target for energy and metabolic homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007;10:729–734.
12. *Cani P.D., Delzenne N.M.* The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Curr PharmDes* 2009;15:1546–58.
13. *Cani P.D., Osto M., Geurts L., Everard A.* Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut microbes* 2012 Jul 1;3.
14. *Cani P.D.* Metabolism in 2013: The gut microbiota manages host metabolism. *Nature reviews Endocrinology* 2014 Feb;10:74–6.
15. *Cani P.D., Everard A., Duparc T.* Gut microbiota, enteroendocrine functions and metabolism. *Current opinion in pharmacology* 2013 Dec;13:935–40.



16. *Delzenne N.M., Neyrinck A.M., Backhed F., Cani P.D.* Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics. *Nature reviews Endocrinology* 2011;7:639–46.
17. *Delzenne N.M., Neyrinck A.M., Cani P.D.* Gut microbiota and metabolic disorders: How prebiotic can work? *The British journal of nutrition* 2013 Jan;109 Suppl 2:S81–5.
18. *De Filippo C., Cavalieri D., Di Paola M., et al.* Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa – PNAS, Early Edition, 2010, on line.
19. *Di Baise J.K., Zhang H., Crowell M.D., et al.* Gut microbiota and its relationship with obesity. *Mayo Clin. Proc.* 2008; 83 (4): 460–469.
20. *de Vos W.M., de Vos E.A.* Role of the intestinal microbiome in health and disease: from correlation to causation. *Nutr Rev* 2012;70(suppl 1):S45–S56.
21. *Eckel R.H., et al.* The metabolic syndrome. *Lancet* 2010; 375:181–183.
22. *El-Matary W., Simpson R., Ricketts-Burns N.* Fecal microbiota transplantation: are we opening a can of worms? *Gastroenterology* 2012; 143:e19–e20.
23. *Everard A., Cani P.D.* Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2013 Feb;27:73–83.
24. *Everard A., et al.* Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110: 9066–9071.
25. *Fabbrini E., Tamboli R.A., et al.* Surgical removal of omental fat does not improve insulin sensitivity and cardiovascular risk factors in obese adults. *Gastroenterology* 2010;139: 448–445.
26. *Gregor M.F., Hotamisligil G.S.* Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu. Rev. Immunol.* 2011; 29: 415–445.
27. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012;486:207–214.
28. *Kadooka Y., Sato M., Imaizumi K., et al.* Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in randomized controlled trial. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2010; 64: 636–643.
29. *Kahn B.B., Alquier T., Carling D., et al.* AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab.* 2005; 1: 15–25.
30. *Karlsson F.H., et al.* Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 2013;498:99–103.
31. *Kootte R.S., Vrieze A., Holleman F., et al.* The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab* 2012;14:112–120.
32. *Koliwad S.K., Kuo T., Shipp L.E., et al.* Angiopoietin-like 4 (ANGPTL4, fasting-induced adipose factor) is a direct glucocorticoid receptor target and participates in glucocorticoid-regulated triglyceride metabolism. *J Biol Chem* 2009;284:25593–25601.
33. *Kondo S., Xiao J., Satou T., et al.* Antiobesity effects of *Bifidobacterium breve* Strain B-3 supplementation in a mouse model with high-fat diet-induced obesity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2010; 74: 1656–1661.
34. *Lee H.Y., Park J.H., Seok S.H., et al.* Human originated bacteria *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. *Biochim. Biophys. Acta.* 2006; 1761 (7): 736–744.
35. *Ley R.E., et al.* Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:11070–11075.
36. *Ley R.E., et al.* Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022–1023.
37. *Macfarlane G.T., Macfarlane S.* Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int* 2012; 95:50–60.
38. *Moreno-Navarrete J.M., et al.* Circulating lipopolysaccharide-binding protein (LBP) as a marker of obesity-related insulin resistance. *Int J Obes (Lond)* 2012;36: 1442–1449.
39. *Nieuwdorp M., Gilijamse Pim W., Pai Nikhil, Kaplan Lee M.* Role of the Microbiome in Energy Regulation and Metabolism. *Gastroenterology* 2014;146:1525–1533.
40. *Qin J., Li R., Raes J., et al.* A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.* 2010; 464 (4): 59–67.
41. *Qin J., et al.* A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012;490:55–60.
42. *Petschow B., Dore J., Hibberd P., Dinan T., Reid G., Blaser M., et al.* Probiotics, prebiotics, and the host microbiome: the science of translation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2013;22:12303.
43. *Portugal L., Goncalves J., Fernandes L., et al.* Effect of *Lactobacillus delbrueckii* on cholesterol metabolism in germ-free mice and on atherogenesis in apolipoprotein E knock-out mice. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2006; 39: 629–635.
44. *Schwartz A., et al.* Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18:190–195.

45. Swinburn B.A., et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet* 2011; 378:804–814.
46. Tazoe H., et al. Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR41 and GPR43 on colonic functions. *J Physiol Pharmacol* 2008;59(suppl 2):251–262.
47. Tilg H. Obesity, metabolic syndrome, and microbiota: multiple interactions. *J Clin Gastroenterol* 2010;44 (suppl 1): S16–S18.
48. Turnbaugh P.J., et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006;444:1027–1031.
49. Vriese A., et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012;143: 913–916-7.
50. Wu G.D., Chen J., et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011;334: 105–108.

## РЕЗЮМЕ

**Роль кишкової мікробіоти у розвитку ожиріння та інсулінорезистентності****С.М. Ткач, О.С. Тимошенко, А.А. Дорофеева**

В огляді описано взаємозв'язок між дисбалансом кишкової мікробіоти та розвитком ожиріння, інсулінорезистентності (ІР). Показані метаболічні, імуногенні ефекти кишкової мікробіоти на організм в цілому, особливості її складу та поділ на «ентеротипи», патогенетичні механізми впливу на хронічне системне запалення, що супроводжує ожиріння та ІР. Представлені види модифікації кишкової мікробіоти як один з методів профілактики та лікування багатьох захворювань, в тому числі ожиріння та ІР.

**Ключові слова:** кишкова мікробіота, ожиріння, інсулінорезистентність.

## РЕЗЮМЕ

**Роль кишечной микробиоты в развитии ожирения и инсулинорезистентности****С.М. Ткач, А.С. Тимошенко, А.А. Дорофеева**

В обзоре описана связь между дисбалансом кишечной микробиоты и развитием ожирения, инсулинорезистентности (ИР). Показаны метаболические, иммуногенные эффекты кишечной микробиоты на организм в целом, особенности ее состава и деления на «энтеротипы», патогенетические механизмы влияния на хроническое системное воспаление, сопровождающее ожирение и ИР. Представлены виды модификации кишечной микробиоты как один из методов профилактики и лечения многих заболеваний, в том числе ожирения и ИР.

**Ключевые слова:** кишечная микробиота, ожирение, инсулинорезистентность.

## SUMMARY

**Involment of gut microbiota in the development of obesity and insulin resistance****S. Tkach, O. Tymoshenko, A. Dorofeyeva**

The review describes the relationship between the imbalance of the intestinal microbiota and the development of obesity and insulin resistance. Showing metabolic, immunogenic effects of the intestinal microbiota in the body, especially its composition and the division into «enterotypes» pathogenic mechanisms of influence on chronic systemic inflammation that accompanies obesity and insulin resistance. The review presents methods of intestinal microbiota modifications as a prevention and treatment of many diseases, including obesity and insulin resistance.

**Key words:** intestinal microbiota, obesity, insulin resistance.

Дата надходження до редакції 11.01.2016 р.