

# STRESZCZENIE

## Wstęp

Rozpowszechnienie otyłości przyjęło już rozmiar epidemii i stanowi poważne wyzwanie XXI wieku. Nadmierna masa ciała jest uznaną przyczyną zwiększonej zachorowalności i śmiertelności z powodu incydentów sercowo-naczyniowych. U podstaw rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego leży nieprawidłowa funkcja śródbłonka naczyń tętniczych. W złożonej patogenezie dysfunkcji śródbłonka u otyłych pacjentów obok udziału klasycznych czynników ryzyka, stanowiących zarazem typowe powikłania otyłości, takich jak nadciśnienie tętnicze, zaburzenia gospodarki lipidowej i węglowodanowej, rozważa się także rolę nowych czynników m.in. przewlekłego wewnątrznaczyniowego procesu zapalnego, stresu oksydacyjnego oraz hiperhomocysteinemii.

Wiele prac badawczych poświęcono dotychczas analizie znaczenia mikroflory jelitowej w patogenezie otyłości, cukrzycy. Badania w ostatnich latach wskazują na potencjalny udział zaburzeń w składzie mikroflory jelitowej w rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego. Stosowanie diety o dużej zawartości tłuszczu skutkuje zwiększeniem liczebności bakterii Gram-ujemnych we florze przewodu pokarmowego człowieka. Błona komórkowa tych bakterii zawiera w swoim składzie lipopolisacharyd (ang. *lipopolysaccharide*, LPS), który aktywuje receptor Toll-podobny 4 (ang. *toll-like receptor 4*, TLR4) oraz indukuje przewlekłą endotoksemię. Inicjacja procesu zapalnego przyczynia się do narastania insulinooporności, wzrostu stężenia glukozy oraz triglicerydów (ang. *triglycerides*, TG), a także zwiększenia produkcji cytokin prozapalnych takich jak: interleukiny 1 (ang. *interleukin 1*, Il-1), interleukiny 6 (ang. *interleukin 6*, Il-6), czynnika martwicy nowotworów  $\alpha$  (ang. *tumor necrosis factor  $\alpha$* , TNF- $\alpha$ ), a także reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*, ROS). Skutkuje to upośledzeniem funkcji śródbłonka naczyniowego, a tym samym wzrostem ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego. Podstawową metodą modulacji składu mikroflory jelitowej jest suplementacja wybranych szczepów bakterii w postaci preparatów probiotycznych. W piśmiennictwie pojawia się coraz więcej prac na temat korzyści klinicznych wynikających z suplementacji preparatów probiotycznych, jak również możliwości terapeutycznego zastosowania probiotyków jako naturalnej metody redukującej ryzyko sercowo-naczyniowe. W świetle powyższych doniesień uzyskanie odpowiedzi na

pytanie czy suplementacja wybranym preparatem probiotycznym może wywierać wpływ na parametry dysfunkcji śródbłonka naczyniowego u otyłych kobiet stanowi interesujące i warte zgłębienia zagadnienie badawcze.

### **Cele pracy**

Celem pracy była ocena wpływu 12-tygodniowej suplementacji preparatem probiotycznym na parametry gospodarki lipidowej, stężenie glukozy, wybrane parametry biochemiczne dysfunkcji śródbłonka naczyniowego oraz wskaźnik sztywności naczyń u otyłych kobiet.

### **Materiał i metodyka**

Projekt uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu na podstawie uchwały nr 659/16.

Kryteria włączenia do badania stanowiły: pisemne udzielenie świadomej zgody na udział w badaniu, wiek od 45 do 65 lat, płeć żeńska, BMI 30 – 45 kg/m<sup>2</sup>, obwód talii >80 cm, stabilna masa ciała ( $\pm 1$  kg w ostatnim miesiącu). Kryteria wykluczenia z badania stanowiły: wtórna postać otyłości, choroby przewodu pokarmowego, cukrzyca, przewlekła choroba nerek (GFR < 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>), klinicznie istotne zaburzenie funkcji wątroby, dyslipidemia lub nadciśnienie tętnicze wymagające wdrożenia leczenia farmakologicznego w ostatnich 3 miesiącach przed rozpoczęciem obserwacji lub w trakcie obserwacji, stosowanie suplementów diety w okresie ostatniego miesiąca od rozpoczęcia badania, klinicznie istotny ostry lub przewlekły proces zapalny, palenie papierosów, nadużywanie alkoholu, równoczesny udział w badaniu mającym wpływ na zmianę masy ciała lub stosowanie leków/zachowania żywieniowe mające wpływ na zmianę masy ciała, istotna zmiana aktywności fizycznej w trakcie trwania badania, przyjmowanie antybiotyków w ciągu 1 miesiąca przed rozpoczęciem badania, stosowanie diety wegetariańskiej, spożywanie produktów wzbogaconych w pre- lub probiotyki oraz produktów z wysoką zawartością błonnika pokarmowego lub dużych ilości żywności fermentowanej (>400g/dobę), hormonalna terapia zastępcza, i/lub inne zaburzenia mogące w jakikolwiek sposób stanowić ryzyko dla zdrowia pacjenta podczas przeprowadzania badania i/lub utrudnić, ograniczyć skuteczność badania. W ramach kwalifikacji przeprowadzono badanie podmiotowe,

przedmiotowe, w tym pomiary antropometryczne (masa ciała, wzrost, wskaźnik BMI, obwód talii) oraz pomiar ciśnienia tętniczego (Tech-Med, Model TMA 875B).

Do badania ostatecznie zakwalifikowano 50 kobiet, które losowo przydzielono do grupy otrzymującej preparat probiotyczny (n=25) lub placebo (n=25). Preparat probiotyczny i placebo zostały przygotowane przez firmę Winclove – preparat Ecologic® BARRIER. Probiotyk zawierał 8 szczepów bakterii w ilości  $2,5 \times 10^9$  CFU/g. Pacjentki przyjmowały dwie saszetki proszku dziennie – łącznie 4 g/dobę przez okres 12 tygodni. Na początku i po zakończeniu 12-tygodniowej interwencji oceniono sztywność naczyń tętniczych przy użyciu aparatu Pulse Trace PCA 2 (Micro Medical, Rochester, UK) oraz wykonano badania biochemiczne. Stężenie Il-6, TNF- $\alpha$  (DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany), homocysteiny (Axis-Shield Diagnostics Ltd., UK) oznaczono metodą immunoenzymatyczną, całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza (ang. *total antioxidant status*, TAS) (Randox Laboratories, Ltd, Crumlin, UK) metodą kalorymetryczną. Ponadto oznaczono stężenie parametrów gospodarki lipidowej oraz glukozy przy użyciu systemu biochemicznego Dimension® (Siemens, Newark, NJ, USA). Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą programu Statistica 13.1 (StatSoft® Polska).

## Wyniki

Po 12-tygodniowej suplementacji preparatem probiotycznym stwierdzono istotne statystycznie obniżenie stężenia cholesterolu całkowitego (ang. *total cholesterol*, TCH) (p=0,0019), cholesterolu frakcji lipoprotein niskiej gęstości (ang. *low-density lipoprotein*, LDL) (p=0,0149), TG (p=0,0140) oraz glukozy (p<0,0001). Analiza porównawcza pomiędzy grupami wykazała, że zmiana ( $\Delta$ ) stężenia TCH i glukozy po 12 tygodniach interwencji w grupie suplementującej preparat probiotyczny, w stosunku do zmiany ( $\Delta$ ) stężenia TCH i glukozy w grupie, która otrzymywała placebo osiągnęła istotność statystyczną (odpowiednio p=0,0472, p=0,0059).

Nie zaobserwowano istotnych różnic w stężeniu Il-6 po zakończeniu 12-tygodniowej interwencji. Natomiast w grupie pacjentek otrzymujących preparat probiotyczny stwierdzono istotny statystycznie spadek stężenia TNF- $\alpha$  (p=0,0001) po okresie 12-tygodniowej suplementacji. Analiza porównawcza stężenia TNF- $\alpha$  pomiędzy grupami po zakończeniu 12-tygodniowej interwencji wykazała występowanie istotności statystycznej (p=0,0070). Uzyskana zmiana ( $\Delta$ ) stężenia TNF- $\alpha$  po 12 tygodniach w grupie suplementującej preparat probiotyczny była istotna, w stosunku do zmiany ( $\Delta$ ) stężenia TNF- $\alpha$  w grupie placebo

( $p=0,0002$ ). Po 12 tygodniach suplementacji preparatem probiotycznym stwierdzono istotny wzrost poziomu TAS ( $p=0,0076$ ). Analiza porównawcza poziomu TAS pomiędzy grupami po zakończeniu 12-tygodniowej interwencji wykazała występowanie istotności statystycznej ( $p=0,0017$ ). Istotna statystycznie była również uzyskana zmiana ( $\Delta$ ) poziomu TAS po 12 tygodniach w grupie suplementującej preparat probiotyczny, w stosunku do zmiany ( $\Delta$ ) poziomu TAS w grupie placebo ( $p=0,0032$ ). Stężenie homocysteiny było istotnie niższe po 12 tygodniach ( $p<0,0001$ ) w grupie suplementującej probiotyk. Podobnie zmiana ( $\Delta$ ) stężenia homocysteiny po 12 tygodniach interwencji w grupie suplementującej preparat probiotyczny, w stosunku do zmiany ( $\Delta$ ) stężenia homocysteiny w grupie przyjmującej placebo wykazywała istotność statystyczną ( $p=0,0263$ ).

W grupie pacjentek otrzymujących preparat probiotyczny po 12 tygodniach suplementacji stwierdzono istotne statystycznie ( $p=0,0214$ ) obniżenie wartości wskaźnika sztywności naczyń tętniczych (ang. *stiffness index*, SI). Analiza porównawcza pomiędzy grupami nie wykazała istotnych zmian przed i po interwencji.

Analiza zależności pomiędzy zmianą ( $\Delta$ ) stężenia TCH, cholesterolu frakcji lipoprotein wysokiej gęstości (ang. *high-density lipoprotein*, HDL), cholesterolu frakcji LDL i TG, a zmianą ( $\Delta$ ) stężenia Il-6, TNF- $\alpha$  i TAS w grupie suplementującej preparat probiotyczny nie wykazała występowania istotnych statystycznie korelacji. Nie wykazano również istotnych statystycznie zależności pomiędzy zmianą ( $\Delta$ ) wskaźnika SI, a zmianą ( $\Delta$ ) stężenia TCH, cholesterolu frakcji HDL, LDL, TG, Il-6, TNF- $\alpha$ , TAS oraz homocysteiny po zastosowaniu 12-tygodniowej interwencji w grupie badanej.

## **Wnioski**

- Profil lipidowy oraz stężenie glukozy u otyłych kobiet ulegają korzystnej modyfikacji po 12-tygodniowej suplementacji preparatem probiotycznym.
- Suplementacja preparatem probiotycznym przez okres 12 tygodni pozytywnie moduluje wskaźniki dysfunkcji śródbłonna u otyłych kobiet, co świadczy o potencjale naczynioprotekcyjnym zastosowanego probiotyku.

**Słowa kluczowe:** probiotyki, mikroflora jelitowa, śródbłonek, otyłość