



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας  
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών  
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση

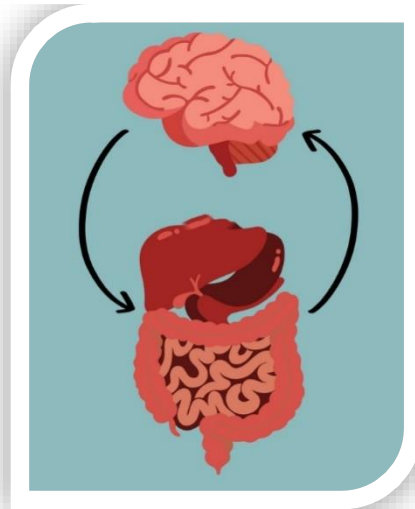


ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

## «Η Σχέση του Μικροβιώματος με τον Εγκέφαλο»

POST GRADUATE THESIS

## «The Relationship Between Microbiome and Brain»



ΟΝΟΜΑΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

**Κωνσταντίνος Κωστόπουλος**

Konstantinos Kostopoulos

ΟΝΟΜΑΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

**Χρυσάνθη Βογιατζάκη**

Chrysanthi Voyiatzaki

ΑΙΓΑΛΕΩ/ΑΙΓΑΛΕΟ 2023



Faculty of Health and Caring Professions  
Department of Biomedical Sciences  
Postgraduate program:  
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

**«The relationship between microbiome and brain»**

Konstantinos Kostopoulos

21011

Kostaskostopoulos94@gmail.com

FIRST SUPERVISOR

Chrysanthi Voyiatzaki

SECOND SUPERVISOR

Nikos Thalassinos

AIGALEO 2023

## Επιτροπή εξέτασης

2 Οκτωβρίου 2023

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 <sup>ος</sup> Εξεταστής	Χρυσάνθη Βογιατζάκη	
2 <sup>ος</sup> Εξεταστής	Νίκος Θαλασσινός	

## **Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας**

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος Κωνσταντίνος Κωστόπουλος του Ιωάννη, με αριθμό μητρώου 21011 φοιτητής του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο Δηλών



## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους επιβλέποντες καθηγητές μου Χρυσάνθη Βογιατζάκη και Νικόλαο Θαλασσινό, επίκουρους καθηγητές του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, για την ανάθεση της διπλωματικής μου εργασίας, που συνετέλεσε στο να μελετήσω ένα θέμα που με ενδιαφέρει ιδιαίτερα. Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον Αναστάσιο Κριεμπάρδη, διευθυντή του προγράμματος «Βιοϊατρικές Μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση», για τη συμβολή του στην ολοκλήρωση των μεταπτυχιακών σπουδών μου.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους εκείνους που με βοήθησαν είτε πρακτικά είτε πνευματικά να ανταπεξέλθω επάξια σε όλες τις υποχρεώσεις της σχολής, φτάνοντας σιγά σιγά στην ολοκλήρωση της φοίτησής μου.

## Περίληψη

Η ανθρώπινη μικροχλωρίδα, δηλαδή ο πληθυσμός των συμβιωτικών μικροβίων στο σώμα μας, ξεκινάει να δημιουργείται από τις πρώτες στιγμές της ζωής μας ως έμβρυο. Η μικροβιακή ταυτότητα του νεογνού επηρεάζεται από την μητέρα του και τον περιβάλλοντα χώρο. Κάθε μικροβίωμα έχει το δικό του ξεχωριστό τύπο και παρά τις διάφορες ψυχολογικές, περιβαλλοντικές και γενετικές επιρροές στην διάρκεια του χρόνου, παραμένει σχεδόν αναλλοίωτο. Ο μεγαλύτερος πληθυσμός μικροβιακών ειδών απαντάται στο έντερο, δημιουργώντας την εντερική μικροχλωρίδα. Σε αυτή συμβιώνουν κοινά βακτήρια τα οποία είναι ωφέλημα στον οργανισμό-ξενιστή για τις μεταβολικές τους ιδιότητες. Πέρα από τους ωφέλιμους μικροοργανισμούς, στην γαστρεντερική οδό εισέρχονται μέσω του στόματος και πολλά άλλα παθογόνα βακτήρια. Τα βακτήρια αυτά επηρεάζουν την ομοιόσταση της γαστρεντερικής μικροχλωρίδας δημιουργώντας ένα μη ισορροπημένο περιβάλλον που καλείται «δυσβολία». Στις γαστρεντερικές δυσλειτουργίες και στις βακτηριακές μεταβολές σημαντικό ρόλο παίζει ο «άξονας εντέρου-εγκεφάλου». Η επικοινωνία των δύο αυτών οργάνων είναι αμφίδρομη με βασική οδό σύνδεσης τους το πνευμονογαστρικό νεύρο. Ένα πλήθος ενδογενών και εξωγενών παραγόντων επηρεάζουν κατά μήκος τον άξονα σύνδεσης με αποτέλεσμα να επηρεάζεται άμεσα το εντερικό αλλά και το κεντρικό νευρικό σύστημα. Οι μεταβολές της εντερικής μικροχλωρίδας αποδεικνύεται πως ευθύνονται για την παρουσία ψυχοκοινωνικών συνδρόμων με άμεσες συνέπειες στην εγκεφαλική λειτουργία. Η πιο κοινή γαστρεντερική δυσλειτουργία είναι το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, ενώ γενικά, η διάγνωση των γαστρεντερικών δυσλειτουργιών βασίζεται κυρίως στην παρατήρηση των συμπτωμάτων. Η χρήση αντιβιοτικών, προβιοτικών και πρεβιοτικών επηρεάζουν την μικροχλωρίδα και οι ερευνητές χρησιμοποιούν αυτές τις ουσίες στοχεύοντας στην παρατήρηση και θεραπεία αυτών των νοσημάτων. Αν και οι έρευνες βασίζονται κυρίως σε ζωικά πειραματικά μοντέλα, ο άξονας εντέρου-εγκεφάλου αποτελεί την έναρξη για την κατανόηση της συμπεριφοράς του εντέρου και του εγκεφάλου σε ασθένειες οι οποίες όπως αποδεικνύεται οφείλονται στις μεταβολές των τρισεκατομμύρια βακτηρίων που κατοικούν στο έντερο μας.

**Λέξεις κλειδιά:** Μικροβίωμα του εντέρου, μικροχλωρίδα, άξονας εντέρου-εγκεφάλου, κεντρικό νευρικό σύστημα, πνευμονογαστρικό νεύρο, μεταμόσχευση κοπράνων.

## **Abstract**

The human microbiota, that is, the population of symbiotic microbes in our body, begins to be created from the first moments of our lives as an embryo. The microbial identity of the newborn is influenced by its mother and its surroundings. Each microbiome has its own distinct type, and despite various psychological, environmental and genetic influences over time, it remains virtually unchanged. The largest population of microbial species is found in the intestine, creating the intestinal microbiota. In the intestinal microbiota, common bacteria live together, which are beneficial to the host organism for their metabolic properties. In addition to beneficial microorganisms, many other pathogenic bacteria enter the gastrointestinal tract through mouth. These bacteria affect the homeostasis of the gastrointestinal microflora by creating an unbalanced environment called "dysbiosis". In gastrointestinal dysfunctions and bacterial changes, the "gut-brain axis" plays an important role. The communication of these two organs is bidirectional, with their main connection route being the vagus nerve. A number of endogenous and exogenous factors affects along the connection of axis, directly affecting the intestinal and central nervous system. Changes in the intestinal microflora are shown to be responsible for the presence of psychosocial syndromes with direct consequences on brain function. The most common gastrointestinal dysfunction is irritable bowel syndrome, while generally, the diagnosis of gastrointestinal dysfunction is mainly based on the observation of symptoms. The use of antibiotics, probiotics and prebiotics affect the microflora, and researchers use these substances to observe and treat these diseases. Although research is based primarily on animal experimental models, the gut-brain axis is the starting point for understanding the behavior of gut and brain in diseases that are shown to be, due to changes, in the trillions of bacteria that inhabit our gut.

**Key words:** Gut microbiome, microbiota, microflora, gut-brain axis, central nervous system, vagus nerve, fecal transplantation.



# Περιεχόμενα

.....	i
<b>Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας</b> .....	iv
<b>Ευχαριστίες</b> .....	vi
<b>Περίληψη</b> .....	vii
<b>Abstract</b> .....	viii
<b>Λίστα Εικόνων</b> .....	xi
<b>Συνομογραφίες</b> .....	xiii
<b>Πρόλογος</b> .....	1
<b>Κεφάλαιο 1. Η Δημιουργία της Εμβρυικής Μικροχλωρίδας</b> .....	3
1.1 Η Μικροχλωρίδα στον Αμνιακό Σάκο.....	3
1.2 Οι Πρώτες Μικροβιακές Αποικίες .....	4
<b>Κεφάλαιο 2. Ανθρώπινη Μικροχλωρίδα</b> .....	7
2.1 Αποικισμός και Αμυντικό Σύστημα .....	8
2.2 Παράγοντες που Επηρεάζουν το Μικροβίωμα.....	9
2.2.1 Διατροφή .....	10
2.2.2 Αντιβιοτικά .....	12
2.2.3 Τρόπος Ζωής.....	13
2.3 Εντερική Μικροχλωρίδα.....	14
2.3.1 Η Σημασία μιας Υγιούς Μικροχλωρίδας .....	17
<b>Κεφάλαιο 3. Άξονας Εντέρου-Εγκεφάλου</b> .....	19
3.1 Σύνδεση των Κοινών Βακτηρίων και του ΚΝΣ.....	22
3.2 Μικροβιακοί Μεταβολίτες .....	23
3.2.1 Λιπαρά Οξέα Βραχείας Αλυσίδας .....	25
3.2.2 Σεροτονίνη.....	26
3.3 Σεροτονίνη και Μικροχλωρίδα.....	28
<b>Κεφάλαιο 4. Ανατομία του Άξονα Εντέρου-Εγκεφάλου</b> .....	29
4.1 Επίδραση του Εγκεφάλου στο Έντερο .....	32
4.2 Ανοσολογική και Γαστρεντερική Λειτουργία .....	33
4.3 Λειτουργία του Εντερικού Νευρικού Συστήματος.....	35
4.4 Ανθεκτικότητα στην Εισβολή Νέων Ειδών .....	35
4.5 Λειτουργική Δράση της Μικροχλωρίδας .....	36
4.6 Εντερικός Φραγμός .....	37

<b>Κεφάλαιο 5. Επικοινωνία Εντέρου-Εγκεφάλου</b> .....	41
5.1 Πνευμονογαστρικό Νεύρο .....	43
5.2 Άξονας Υποθαλάμου-Υπόφυσης-Επινεφριδίων.....	45
5.2.1 Εντερική Μικροχλωρίδα και Άξονας HPA .....	46
5.3 Επικοινωνία Εντέρου-Εγκεφάλου στις Ασθένειες .....	47
<b>Κεφάλαιο 6. Γαστρεντερικές και Εγκεφαλικές Διαταραχές</b> .....	50
6.1 Γενικά.....	50
6.2 Διαταραχές του Εντέρου .....	51
6.2.1 Σύνδρομο Ευερέθιστου Εντέρου.....	52
6.2.2 Φλεγμονώδης Νόσος του Εντέρου .....	53
6.2.3 Παχυσαρκία .....	55
6.3 Διαταραχές του Εγκεφάλου .....	56
6.3.1 Νόσος Alzheimer .....	57
6.3.2 Κατάθλιψη .....	60
6.3.3 Νόσος Parkinson.....	62
<b>Κεφάλαιο 7. Αποκατάσταση Μικροβιακής Ομοιόστασης</b> .....	65
7.1 Το Μικροβίωμα ως Βιοδείκτης .....	65
7.2 Αντιβιοτικά .....	66
7.3 Χορήγηση Μικροβίων για Θεραπευτικούς Σκοπούς .....	68
7.3.1 Προβιοτικά .....	68
7.3.2 Πρεβιοτικά.....	69
7.3.3 Συνβιοτικά .....	70
7.4 Μέθοδοι Μελέτης και Ανίχνευσης Εντερικών Αποικιών .....	70
7.4.1 Γονίδιο 16s RNA.....	71
7.4.2 Μεταγονιδιωματική, Μεταγραφομική, Μεταπρωτεομική και Μεταβολομική Αλληλούχιση.....	72
7.5 Μεταφορά Μικροβίων με Μεταμόσχευση Κοπράνων.....	75
<b>Συνοψίζοντας...</b> .....	77
<b>Αναφορές</b> .....	78

## Λίστα Εικόνων

Εικόνα 1. Η λειτουργία του εντερικού φραγμού για τον περιορισμό της εντερικής μικροχλωρίδας.

Πηγή | [The role of gut microbiota in programming the immune phenotype. - Abstract - Europe PMC](#)

Εικόνα 2. Η διαφορετική μικροβιακή κατανομή ανά άτομο. Πηγή | [Current understanding of the human microbiome - PMC \(nih.gov\)](#)

Εικόνα 3. Μικροβιακές επιδράσεις των αντιβιοτικών στην εντερική μικροχλωρίδα.

Πηγή | [Αντιβιοτικά και εντερική μικροχλωρίδα - PMC \(nih.gov\)](#)

Εικόνα 4. Γραφική απεικόνιση της ομοιότητας του εντερικού μικροβιώματος των βρεφών με τις μητέρες τους. Πηγή | [Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life: Cell Host & Microbe](#)

Εικόνα 5. Διατροφικές επιρροές στον άξονα εντέρου-εγκεφάλου.

Πηγή | <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2016.10.002>

Εικόνα 6. Παράγοντες που επηρεάζουν τον άξονα εντέρου-εγκεφάλου. Πηγή | [Pinterest](#)

Εικόνα 5. Η δράση του άξονα εντέρου-εγκεφάλου στο σώμα. Πηγή | [Brain-gut-microbiota axis in depression: A historical overview and future directions - ScienceDirect](#)

Εικόνα 8. Οδοί επικοινωνίας του εντέρου με το ΚΝΣ. Πηγή | [IJMS | Free Full-Text | The Role of Gut Microbiota and Gut-Brain Interplay in Selected Diseases of the Central Nervous System \(mdpi.com\)](#)

Εικόνα 9. Η σεροτονίνη στη ρύθμιση του άξονα εντέρου-εγκεφάλου.

Πηγή | [The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood - PMC \(nih.gov\)](#)

Εικόνα 10. Η πολυδιάστατη αλληλεπίδραση μεταξύ του εντερικού νευρικού συστήματος και του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Πηγή | [Cellular Organization of Neuroimmune Interactions in the Gastrointestinal Tract - PMC \(nih.gov\)](#)

Εικόνα 11. Απλοποιημένη απεικόνιση του άξονα εντέρου-εγκεφάλου.

Πηγή | [Frontiers | Molecular anatomy of the gut-brain axis revealed with transgenic technologies: implications in metabolic research \(frontiersin.org\)](#)

Εικόνα 12. Η δομή του εντερικού φραγμού.

Πηγή | [Intestinal barrier disorders and metabolic endotoxemia in obesity: Current knowledge - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/The-structure-of-the-intestinal-barrier\\_fig1\\_359122749 \[accessed 14 Aug, 2023\]](#)

Εικόνα 13. Άμεσες και έμμεσες οδοί επικοινωνίας που ρυθμίζουν τον άξονα εντέρου-εγκεφάλου.

Πηγή | [The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood - PMC \(nih.gov\)](#)

Εικόνα 14. Διάγραμμα των οδών επικοινωνίας εντέρου-εγκεφάλου.

Πηγή | [JCI - Gut-brain communication and obesity: understanding functions of the vagus nerve](#)

Εικόνα 15. Μηχανισμοί σύνδεσης της εντερικής μικροχλωρίδας και του άξονα HPA.

Πηγή | [The HPA axis dysregulation in severe mental illness: Can we shift the blame to gut microbiota? - ScienceDirect](#)

Εικόνα 16. Επικοινωνία εντέρου-εγκεφάλου στην υγεία.

Πηγή | [Frontiers | Brain–Gut–Microbe Communication in Health and Disease \(frontiersin.org\)](https://www.frontiersin.org/journal/10.3389/fcimb.2020.00001)

Εικόνα 17. Διάγνωση των ασθενειών IBS και IBD με βάση τη συμπτωματολογία.

Πηγή | [Inflammatory Bowel Disease or Irritable Bowel Syndrome? | Department of Surgery | Washington University in St. Louis \(wustl.edu\)](https://www.wustl.edu/department/surgery/ibd/ibd-diagnosis/)

Εικόνα 18. Απεικόνιση της δράσης του άξονα εντέρου-εγκεφάλου στην παχυσαρκία.

Πηγή | [Obesity and gut–microbiota–brain axis: A narrative review - Asadi - 2022 - Journal of Clinical Laboratory Analysis - Wiley Online Library](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jcla.12488)

Εικόνα 19. Η επίδραση της μικροβιακής διαταραχής στην εμφάνιση ασθενειών του ΚΝΣ.

Πηγή | [IJMS | Free Full-Text | The Role of Gut Microbiota and Gut–Brain Interplay in Selected Diseases of the Central Nervous System \(mdpi.com\)](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mdp.1401)

Εικόνα 20. Εναπόθεση αμυλοειδούς-β στη νόσο Alzheimer.

Πηγή | [PDF\) Amyloid-β Immunotherapy for Alzheimer's Disease – Is It Now A Long Shot...? \(researchgate.net\)](https://www.researchgate.net/publication/358111111)

Εικόνα 21. Ο ρόλος του άξονα εντέρου-εγκεφάλου στην κατάθλιψη.

Πηγή | [Brain–gut–microbiota axis in depression: A historical overview and future directions - ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926641020300001)

Εικόνα 22. Τα πλεονεκτήματα της μεταφοράς μικροβίων κοπράνων.

Πηγή | [Encyclopedia of fecal microbiota transplantation: a review o... : Chinese Medical Journal \(lww.com\)](https://www.lww.com/doi/10.1097/CMJ.0000000000000000)

## Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
GIT	Gastrointestinal Tract	Γαστρεντερική οδός
ΚΝΣ	Central Nervous System	Κεντρικό νευρικό σύστημα
FGIDs	Functional Gastrointestinal Disorders	Λειτουργικές γαστρεντερικές διαταραχές
IBS	Irritable Bowel Syndrome	Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου
SCFA	Short Chain Fatty Acid	Λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας
IBD	Inflammatory Bowel Disease	Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
DCs	Dendritic Cells	Δενδριτικά κύτταρα
GF	Germ-free Organisms	Οργανισμοί χωρίς μικρόβια
5-HT	5-Hydroxytryptamine	5-Υδροξυτρυπταμίνη (Σεροτονίνη)
VN	Vagus Nerve	Πνευμονογαστρικό Νεύρο
HPA	Hypothalamic–Pituitary–Adrenal	Υποθάλαμος-Υπόφυση-Επινεφρίδια
ΕΝΣ	Enteric Nervous System	Εντερικό νευρικό σύστημα
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor	Νευροτροφικός παράγοντας
CCK	Cholecystokinin	Χολοκυστοκίνη
PD	Parkinson Disease	Νόσος Parkinson
ECC	Enterochromaffin Cell	Κύτταρα Εντεροχρωμαφίνης
EEC	Enteroendocrine Cells	Εντεροενδοκρινικά κύτταρα
ΑΝΣ	Autonomic Nervous System	Αυτόνομο νευρικό σύστημα
LPS	Lipopolysaccharide	Λιποπολυσακχαρίτης
TLRs	Toll-like receptors	Υποδοχείς τύπου toll
PRR	Pattern Recognition Receptors	Υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων
PAR	Protease-Activated Receptors	Υποδοχείς που ενεργοποιούνται με πρωτεάση
DC	Dendritic Cell	Δενδριτικά κύτταρα
AD	Alzheimer Disease	Νόσος Alzheimer
Aβ	Amyloid Beta	Πρωτεΐνη β-αμυλοειδούς
APP	Amyloid-beta Precursor Protein	Πρόδρομη πρωτεΐνη αμυλοειδούς
MDD	Major Depressive Disorder	Μείζων καταθλιπτική διαταραχή
FMT	Fecal Microbiota Transplantation	Μεταμόσχευση μικροβίων κοπράνων
OTUs	Operational Taxonomic Units	Λειτουργικές ταξινομικές μονάδες
BD	Bipolar Disorder	Διπολική διαταραχή

## Πρόλογος

Ο άνθρωπος, όπως και όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί, συμβιώνει με ένα πλήθος μικροβιακών ειδών τα οποία αποικίζουν τον οργανισμό-ξενιστή από την πρώτη ημέρα της γέννησης του και συνεχίζουν να τον επηρεάζουν καθ' όλη την πορεία της ζωής του. Στο ανθρώπινο σώμα βρίσκονται, σύμφωνα με τις πρώτες εκτιμήσεις, τουλάχιστον 100 τρισεκατομμύρια μικροβιακά κύτταρα, αριθμός που είναι πολύ μεγαλύτερος από τα ανθρώπινα (Whitmanetal., 1998). Τα μικρόβια αυτά δείχνουν να είναι σημαντικά για την εύρυθμη λειτουργία και την υγεία του οργανισμού και μελετώνται για την επίδραση που ασκούν στον μεταβολισμό του ξενιστή αλλά και για τον ρόλο που διαδραματίζουν στην λειτουργία και ανάπτυξη του νευρικού και ανοσολογικού συστήματος. Ο μεγαλύτερος αριθμός μικροβιακών κυττάρων βρίσκεται στον εντερικό σωλήνα δημιουργώντας την λεγόμενη «μικροχλωρίδα του εντέρου» (Milanietal., 2017).

Η ανθρώπινη γαστρεντερική οδός (GIT) περιλαμβάνει ένα πλήθος αυτόχθονων ειδών που συμβάλουν στην καλή λειτουργία του εντέρου και κατά συνέπεια όλου του οργανισμού. Τα είδη αυτά, είτε αποικίζουν τον γαστρεντερικό σωλήνα από την νεογνική ηλικία και παραμένουν σε αυτόν σε όλη τη διάρκεια της ζωής του οργανισμού, είτε βρίσκονται σε αυτόν παροδικά έπειτα από τη λήψη συγκεκριμένων τροφών. Τέτοια είδη, τα οποία καλούνται ως προβιοτικά βακτήρια, είναι το *Lactobacillus* και το *Bifidobacterium*. Οι μικροοργανισμοί αυτοί, συνήθως σε ζωντανή μορφή, μπορούν να χορηγηθούν σε ασθενείς ως συμπληρώματα διατροφής (Venturaetal., 2009).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η σύνδεση όλων αυτών των βακτηρίων με τον εγκέφαλο, καθώς η μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου φαίνεται να επηρεάζει άμεσα το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ). Αυτός ο άξονας εντέρου-εγκεφάλου έχει κεντρίσει σε μεγάλο βαθμό την προσοχή των ερευνητών, επειδή σχετίζεται άμεσα με την παρουσία νοσημάτων και επηρεάζει την ψυχοκοινωνική συμπεριφορά του ατόμου.

Οι μελέτες ξεκινούν ήδη από την νεογνική φάση του ανθρώπου και παρουσιάζουν την επίδραση που έχουν οι αλλαγές της εντερικής μικροχλωρίδας ενός νεογνού στην μετ' έπειτα ζωή του ως ενήλικας (Eggesbøetal., 2003; Huhetal., 2012; Sevelstedetal., 2015). Συνεχίζοντας, εστιάζουν στη διαταραχή της ομοιόστασης του εντερικού μικροβιόκοσμου λόγω της κατανάλωσης συγκεκριμένων τροφών ή της

έκθεσης σε χημικές ουσίες. Αυτό μπορεί να προκαλέσει στον ξενιστή μια κατάσταση η οποία αποκαλείται «δυσβολία». Ο όρος χρησιμοποιείται για να περιγράψει επιβλαβείς συνέπειες που προκαλούν οι μεταβολές της ομοιόστασης, όπως είναι η παχυσαρκία ,η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, ο διαβήτης τύπου 2, η ρευματοειδής αρθρίτιδα αλλά και η κατάθλιψη, το άγχος ακόμα και ο αυτισμός, παρ' όλο που είναι δύσκολο να οριστεί η ακριβής έννοια μιας υγιούς μικροχλωρίδας (Biteenetal., 2016).

Η διάγνωση των λειτουργικών γαστρεντερικών διαταραχών (FGIDs) βασίζεται κυρίως στην εμφάνιση συμπτωμάτων, λόγω έλλειψης της κατανόησης των υποκείμενων δομικών ή χημικών ανωμαλιών (Mukhtar et al., 2019). Η πιο γνωστή FGID είναι το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS) το οποίο ενοχοποιείται για την παράλληλη εμφάνιση ψυχολογικών διαταραχών, όπως κατάθλιψη και άγχος (Fondetal., 2014)(Leeetal., 2017). Η συσχέτιση των FGIDs με τα διάφορα ψυχοκοινωνικά συμπτώματα έχουν οδηγήσει στην δημιουργία ενός ψυχοκοινωνικού μοντέλου όπου απεικονίζεται η αλληλεπίδραση ψυχοκοινωνικών και περιβαλλοντικών παραγόντων στον άξονα εντέρου-εγκεφάλου (Mukhtar et al., 2019).

Γίνεται λοιπόν αντιληπτό, πως η αντιμετώπιση των FGIDs βασίζεται στη γνώση και κατανόηση των βιολογικών, ψυχολογικών και κοινωνικών αλληλεπιδράσεων σε έναν οργανισμό (R. L. Levy et al., 2006). Ο άξονας εντέρου-εγκεφάλου μας δίνει μια πληθώρα πληροφοριών σχετικά με την γαστρεντερική, ανοσολογική και νευρολογική λειτουργία. Με την βοήθεια αυτής της γνώσης και την κατάλληλη εκπαίδευση του ιατρικού προσωπικού μπορούμε να επέμβουμε και να διορθώσουμε τυχόν αλλοιώσεις του μικροβιώματος θεραπεύοντας τις ασθένειες αυτές σε ικανοποιητικό επίπεδο.

## Κεφάλαιο 1. Η Δημιουργία της Εμβρυικής Μικροχλωρίδας

Το ανθρώπινο γονιδίωμα, ξεχωριστό για κάθε άτομο, είναι σημαντικό για την ανθρώπινη υγεία, για τη διαμόρφωση της συμπεριφοράς και την εμφάνιση ασθενειών, για αυτό και είναι μεγάλες οι βιοχημικές διαφορές που παρουσιάζονται μεταξύ των ατόμων στην πάροδο του χρόνου (“The Integrative Human Microbiome Project: Dynamic Analysis of Microbiome-Host Omics Profiles during Periods of Human Health and Disease,” 2014). Αν και θα περιμέναμε στα μονοζυγωτικά δίδυμα η μικροβιακή σύνθεση να είναι παρόμοια, έχει παρατηρηθεί πως η μεταξύ τους μικροβιακή ομοιότητα είναι ελάχιστα πιο όμοια από αυτή των μη πανομοιότυπων διδύμων. Το γεγονός αυτό μας δίνει το συμπέρασμα πως η αποίκιση και δημιουργία των μικροβιακών κοινοτήτων στο σώμα επηρεάζεται ελάχιστα από το ανθρώπινο γονιδίωμα, ενώ μεγαλύτερη επίδραση σε αυτό δείχνει να έχουν οι περιβαλλοντικοί παράγοντες στους οποίους εκτίθεται ο οργανισμός (Goodrich et al., 2014).

Το μεγαλύτερο μέρος της μικροβιακής αποίκισης ξεκινάει να αναπτύσσεται τα πρώτα χρόνια της ζωής του ατόμου. Το έμβρυο εξέρχεται από το ενδομήτριο περιβάλλον και έρχεται σε επαφή με ένα πλήθος μικροβιακών πηγών. Μετά τη γέννηση, η δημιουργία του βρεφικού εντερικού μικροβιώματος διαμορφώνεται ανάλογα με τα μικρόβια της μητέρας αλλά και του περιβάλλοντος μέσα στο οποίο κινείται, δημιουργώντας σιγά σιγά τις πρώτες αποικίες της εντερικής μικροχλωρίδας. Σε μία ανάλυση >300.000 γονιδίων 16s rRNA φάνηκε πως η φυλογενετική ποικιλομορφία του μικροβιώματος είχε μία σταδιακή αύξηση στην πορεία του χρόνου και οι αλλαγές της σύνθεσής του παρουσίασαν μια ομαλή κλίση, ενώ αλλαγές και μικροβιακές διακυμάνσεις παρατηρήθηκαν και όταν άλλαζε η διατροφή ή εμφανίζονταν προβλήματα υγείας (Koenig et al., 2011a).

### 1.1 Η Μικροχλωρίδα στον Αμνιακό Σάκο

Ένα θέμα συζήτησης μεταξύ των ειδικών προκύπτει καθώς δεν είναι ακόμα σαφές εάν η μήτρα είναι «στείρα» μικροβιακών αποικισμών (Perez-Muñoz et al., 2017a). Ο οργανισμός των νεογνών αποτελεί ένα πρόσφορο έδαφος για την εγκατάσταση νέων και διαφορετικών τύπων βακτηρίων. Η συναισθηματική κατάσταση της μητέρας κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης (Jašarević et al., 2017), η μητρική διατροφή (D. M. Chu et al.,



2016), ο μήνας τοκετού, η μέθοδος τοκετού αλλά και ο τρόπος σίτισης του βρέφους επηρεάζουν κατά πολύ τη μορφολογία του εντερικού μικροβιώματος (Long & Swenson, 1977a).

Στα βρέφη που γεννιούνται με καισαρική τομή, παίζει σημαντικό ρόλο το περιβάλλον στο οποίο θα εκτεθούν το πρώτο διάστημα της ζωής τους. Σε αυτά τα νεογνά ο αποικισμός καθυστερεί ενώ αργεί να έρθει και η σταθερότητα στην εντερική μικροχλωρίδα (Bennel & Nord, 1987; Long & Swenson, 1977b). Αντίθετα, η χλωρίδα του εντέρου των νεογνών που έχουν γεννηθεί με φυσιολογικό τοκετό, προέρχεται απευθείας από την μητρική κολπική χλωρίδα και τη χλωρίδα των κοπράνων (Tannock et al., 1990).

Υπάρχουν αρκετές μελέτες οι οποίες υποστηρίζουν πως η αποίκιση του οργανισμού από μικρόβια ξεκινάει μετά τη γέννηση του νεογνού και επηρεάζεται από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες στην πορεία. Οι έρευνες αυτές υποστηρίζουν πως η ανίχνευση βακτηριακού DNA στο νεογέννητο έμβρυο οφείλεται σε μολύνσεις από σκόνη ή αντιδραστήρια των εργαστηρίων (Lauderetal., 2016)(Salteretal., 2014), μη μπορώντας να επιβεβαιώσουν τη δημιουργία μικροχλωρίδας εντός ενός υγιούς εμβρυϊκού περιβάλλοντος (Perez-Muñozetal., 2017). Ωστόσο, στοιχεία που προκύπτουν από την ανάλυση δειγμάτων πλακούντα που συλλέχθηκαν από 320 άτομα υπό στείρες συνθήκες (Aagaardetal., 2014) και δειγμάτων αμνιακού υγρού από 166 γυναίκες που οδηγήθηκαν σε πρόωρο τοκετό με άθικτες μεμβράνες (DiGiulioetal., 2008), αποδεικνύουν την παρουσία μικροβιακής ποικιλομορφίας στον αμνιακό σάκο τους τελευταίους μήνες της εγκυμοσύνης τους.

## 1.2 Οι Πρώτες Μικροβιακές Αποικίες

Τα βακτήρια που αποικίζουν τον οργανισμό από τη βρεφική ηλικία εξαρτώνται από τον τρόπο γέννησης του νεογνού, δηλαδή εάν αυτό θα γεννηθεί με φυσιολογικό τοκετό ή με καισαρική τομή. Τα βρέφη που γεννιούνται κολπικά έρχονται σε άμεση επαφή με τα μικρόβια του κόλπου της μητέρας ή τα μικρόβια του δέρματός της με αποτέλεσμα να είναι αυτά που θα δημιουργήσουν τις πρώτες αποικίες (Adlerberth&Wold, 2009). Σε αντίθεση με το φυσιολογικό τοκετό, τα βρέφη που γεννιούνται με καισαρική τομή χαρακτηρίζονται κυρίως από δερματικό μικροβίωμα στο οποίο κυριαρχεί ο *Staphylococcus* και το *Propionibacterium spp* (Dominguez-Belloetal., 2010). Η σύγκριση των δύο αυτών διαφορετικών τρόπων γέννησης έχει αποδείξει πως τα μωρά που

προέρχονται από καισαρική τομή φέρουν χαμηλότερο αριθμό βακτηριακών κυττάρων στο εντερικό τους μικροβίωμα και υψηλότερο αριθμό κυττάρων που εκκρίνουν αντισώματα (Huurreetal., 2008).

Η επαφή του εμβρύου με τα κοιλικά υγρά και τους μικροοργανισμούς του παχέος εντέρου της μητέρας είναι η πιο σημαντική πρώτη φάση ενός φυσιολογικού μικροβιακού αποικισμού. Η ποικιλία και ο αριθμός των ειδών αυξάνεται όταν αρχίσει το νεογνό να τρέφεται με το μητρικό γάλα. Έπειτα από διάστημα περίπου έξι μηνών, όταν γίνει ο απογαλακτισμός και το βρέφος περάσει σε μία ισορροπημένη διατροφή, τότε αποκτά και το δικό του ολοκληρωμένο προσωπικό μικροβίωμα. Το μικροβίωμα αυτό είναι που θα το χαρακτηρίζει σε όλη τη μετέπειτα ζωή του (Weng & Walker, 2013). Έτσι, μέχρι το πρώτο έτος της ζωής του βρέφους, ο βρεφικός εντερικός σωλήνας έχει μετατραπεί από μία στείρα, κατά πολλούς, περιοχή σε έναν εξαιρετικά πυκνό αποικισμό αρκετά παρόμοιο με αυτόν ενός ενήλικα (Palmer et al., 2007).

Στο πρώτο έτος της ζωής ενός νεογνού υπολογίζεται πως υπάρχουν ήδη 10<sup>13</sup> - 10<sup>14</sup> μικρόβια / ml ανάμεσα στα είδη που αποικίζουν την GIT. Η δημιουργία μιας υγιούς ισορροπημένης μικροχλωρίδας βασίζεται στην πρεβιοτική δράση των ολιγοσακχαριτών που αποτελούν το τρίτο πιο άφθονο συστατικό του μητρικού γάλακτος. Οι άπεπτοι ολιγοσακχαρίτες παρέχουν το υπόστρωμα για την παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας (SCFA), βοηθώντας να πολλαπλασιαστούν βακτήρια, όπως τα *Bifidobacteria* και τα *Lactobacillus*, που βελτιώνουν την υγεία. Τα βακτήρια επικοινωνούν με τα επιθήλια του εντέρου και τους υποκείμενους ιστούς χτίζοντας ένα λειτουργικό ανοσοποιητικό φαινότυπο δίχως κάποιας μορφής ασθένεια. Αντίθετα, ένας μη επαρκής εντερικός αποικισμός που μπορεί να οφείλεται σε πρόωρο τοκετό, σε καισαρική τομή ή σε υπερβολική χρήση αντιβιοτικών κατά την εγκυμοσύνη, προκαλεί προβλήματα στην επικοινωνία μεταξύ των βακτηρίων και των επιθηλίων. Αυτό οδηγεί σε αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης ασθενειών που προκαλούνται από το ανοσοποιητικό σύστημα, όπως είναι το άσθμα ή η αλλεργία (Weng & Walker, 2013).

Μία ακόμη διαφορά στη σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας των νεογνών δημιουργείται ανάλογα με τον τρόπο σίτισής τους, αν δηλαδή θηλάζουν ή αν τους χορηγείται τυποποιημένη τροφή. Στα παιδιά της πρώτης κατηγορίας παρατηρείται η αποίκιση περισσότερων αναερόβιων πληθυσμών στα κόπρανα. Σε αντίθεση, αναερόβιοι και προαιρετικά αναερόβιοι οργανισμοί απαντώνται συχνότερα στα κόπρανα βρεφών

που δε θηλάζουν (Stark & Lee, 1982). Για παράδειγμα, σε βρέφη που τρέφονται με μητρικό γάλα έχει παρατηρηθεί μείωση του πληθυσμού του *Clostridium difficile* (Stark et al., 1982).

Τα ωφέλιμα βακτήρια στο έντερο βρέφους 30 ημερών συσχετίζονται με τα επίπεδα IgA στις εντερικές εκκρίσεις και με τον αριθμό των *Bifidobacteria*. Ακόμα, τα επίπεδα των φλεγμονωδών κυτοκινών ιντερλευκίνης-6, επίσης στις εντερικές εκκρίσεις, έχουν αντίστροφη συσχέτιση με τον αριθμό των *Bacteroides fragilis*. Τα δεδομένα αυτά είναι χρήσιμα στις ηλικίες αυτές καθώς τα αυξημένα επίπεδα φλεγμονής είναι πολύ πιθανό να εμφανίσουν συμπτώματα γαστρεντερίτιδας (Sjögren et al., 2009). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί πως οι ολιγοσακχαρίτες, πέρα από τον πολλαπλασιασμό των βακτηρίων, ενεργοποιούν και ορισμένα γονίδια στον οργανισμό με αντιφλεγμονώδη και προφλεγμονώδη δράση (Chichlowski et al., 2012). Τα στοιχεία αυτά και οι παρατηρήσεις των πρώτων μηνών της βρεφικής ηλικίας μας δείχνουν πόσο σημαντική είναι η προστασία που μπορεί να παρέχει ο μητρικός θηλασμός σε ένα νεογέννητο βρέφος σε αντίθεση με εναλλακτικούς τρόπους σίτισης λόγω ασθενειών ή άλλων προβλημάτων (Fanaro et al., 2007).

Η πιθανή ύπαρξη βακτηριακού αποικισμού εντός του αμνιακού υγρού είναι πιθανό να βοηθήσει την ιατρική να εξελιχθεί και να διαχειριστεί με περισσότερη γνώση και εξειδίκευση περιστατικά ασθενειών που παρουσιάζονται ήδη από το στάδιο δημιουργίας του εμβρύου. Γνωρίζουμε πως ο τρόπος ζωής και συμπεριφοράς της μητέρας κατά την περίοδο της κύησης παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην υγεία του μωρού. Μένει, λοιπόν, να αποδειχθεί και να αναγνωριστεί από τον ιατρικό κύκλο αν η μήτρα είναι «στείρα» μικροβίων και αν αυτά έχουν άμεση επίδραση στη βρεφική υγεία. Τότε, παρακολουθώντας μία πιθανή μικροβιακή αποίκιση, ίσως μπορέσουμε να επέμβουμε και να θεραπεύσουμε καταστάσεις πριν την εμφάνισή τους ή σε πολύ πρώιμα στάδια αυτών.

## Κεφάλαιο 2. Ανθρώπινη Μικροχλωρίδα

Το ανθρώπινο μικροβίωμα τα τελευταία χρόνια έχει χρησιμοποιηθεί ως αντικείμενο μελέτης για πολλές έρευνες. Οι αναζητήσεις και οι συνεχείς αναλύσεις της μικροχλωρίδας, μας αποκαλύπτουν την επίδραση που μπορεί να έχει στη λειτουργία του οργανισμού, σε καταστάσεις υγείας ή ασθένειας. Τα βακτήρια απαντώνται σε διάφορα σημεία του ανθρώπινου σώματος, κυρίως στις εσωτερικές και εξωτερικές επιφάνειες της GIT, του σάλιου, του επιπεφυκότα και του δέρματος. Ο μεγαλύτερος, ωστόσο, αποικιακός αριθμός τους βρίσκεται στο παχύ έντερο, ενώ το στομάχι και το λεπτό έντερο, που συμπληρώνουν την πεπτική οδό, δεν αποτελούν εξίσου αξιοσημείωτο αριθμό.

Στα πρώτα χρόνια της αναζήτησης ο αριθμός των κοινών βακτηρίων στο παχύ έντερο υπολογιζόταν περίπου στα 10<sup>14</sup> βακτήρια (Savage, 1977), του δέρματος περίπου 10<sup>12</sup> βακτήρια, ενώ λιγότερα από 10<sup>12</sup> στο υπόλοιπο σώμα (Berg, 1996). Ωστόσο, σε πιο πρόσφατες μελέτες επανεξέτασης της αναλογίας των βακτηριακών κυττάρων σε αντίθεση με τις αρχικές εκτιμήσεις, αποδεικνύεται πως τα μικροβιακά κύτταρα είναι τόσο άφθονα όσο και τα σωματικά μας κύτταρα, σε μία αναλογία που τείνει στο 1:1 (Sender et al., 2016).

Ο αριθμός και η ποικιλία των βακτηριακών στελεχών σε κάθε άνθρωπο διαφέρει. Υπολογίζεται πως ανά πάσα στιγμή υπάρχουν σε έναν οργανισμό 500-1000 είδη βακτηρίων, με το καθένα να φέρει χιλιάδες γονίδια (Turnbaugh et al., 2007). Ο μεγάλος αυτός αριθμός των γονιδίων χαρίζει στα βακτήρια γενετική ποικιλομορφία και μεγαλύτερη ευελιξία σε σχέση με το ανθρώπινο γονιδίωμα. Είναι πλέον αποδεκτό πως η αλλαγή του ανθρώπινου μικροβιώματος επηρεάζει άμεσα τη ομοίωση οργανισμού. Η αλληλεπίδρασή του με το ανοσοποιητικό, το νευρικό και το ενδοκρινικό σύστημα καθώς και ο μικροβιακός μεταβολισμός δείχνουν μεγάλη συσχέτιση σε μια ποικιλία ασθενειών, όπως η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (IBD) (Frank et al., 2007a) και η καταθλιπτική διαταραχή (H. Jiang et al., 2015a).

Η εντερική μικροχλωρίδα, ο μεγαλύτερος αποικισμός του σώματος, προστατεύει τον οργανισμό από παθογόνα βακτήρια επιβλαβή για την υγεία (Candela et al., 2008), αξιοποιεί ενέργεια και θρεπτικά συστατικά από την τροφή που καταναλώνουμε και στα οποία από μόνοι μας δεν θα μπορούσαμε να έχουμε πρόσβαση (Sonnenburg et al., 2005)

και συμβάλλει στην εύρυθμη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος (Olszak et al., 2012).

Παρ' όλη την πεποίθηση ότι το μικροβίωμα κάθε ατόμου είναι προσωπικό, μοναδικό και ελάχιστα μεταβαλλόμενο στη διάρκεια του χρόνου (Zoetendal et al., 1998)(Stewart et al., 2018), καθώς υπάρχουν μεγάλες διαφορές στην ατομική μικροβιακή σύνθεση (Gilbert et al., 2018), η ευρωπαϊκή μελέτη κοινοπραξίας MetaHit κατάφερε να ομαδοποιήσει την ανθρώπινη μικροχλωρίδα σε τρεις κύριους βακτηριακούς εντερότυπους. Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τα κόπρανα εκατοντάδων ατόμων και έπειτα από αλληλούχιση των δειγμάτων φάνηκε πως τα βακτήρια που κυριαρχούν είναι τα *Prevotella*, *Bacteroides* και *Ruminococcus* (Arumugam et al., 2011).

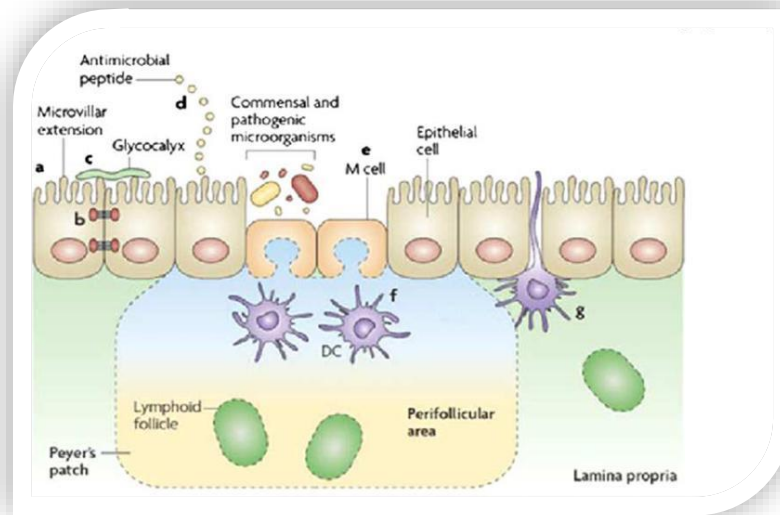
## 2.1 Αποικισμός και Αμυντικό Σύστημα

Αν και θεωρούνται συμβιωτικά, το έντερο έχει αναπτύξει ένα περίπλοκο σύστημα φραγμού ώστε να περιορίσει την εξάπλωση των κοινών μικροβίων στους υποεπιθηλιακούς εντερικούς ιστούς. Η άμυνα αυτή αποτελείται από επιφανειακή βλέννα και από έναν εντερικό φραγμό μεμβράνης. Η επιφανειακή βλέννα συνθέτει ένα στρώμα ιώδους υγρού αποτελούμενο από βλεννίνες, εκκριτική ανοσοσφαίρινη A (sIgA) και μη ειδικά αντιμικροβιακά πεπτίδια (AMPs).

Ο εντερικός φραγμός αποτελεί ένα μεμβρανικό τμήμα δομημένο από επιθηλιακά κύτταρα. Τα επιθηλιακά κύτταρα συνδέονται μεταξύ τους με στενούς δεσμούς δενδριτικών κυττάρων (DC) εξωθούμενα μεταξύ των εντεροκυττάρων. Αυτό το σύστημα ελέγχου και περιορισμού του μικροβιακού πληθυσμού μέσα και έξω από το έντερο, δημιουργεί τις συνθήκες μιας ισορροπημένης, κοινωφελούς και αμοιβαίας επωφελούμενης συμβίωσης. Είναι ο τρόπος του οργανισμού να ανταπεξέλθει στη συνεχή έκθεση στα δυνητικά παθογόνα αλλά και στα ευεργετικά μικρόβια διατηρώντας την ομοιόσταση στο ανοσοποιητικό σύστημα του εντέρου μεταξύ ανοσίας και ανοχής (Artis, 2008).

Η χρήση ποντικών χωρίς μικρόβια (GF) έχει αποδείξει πως το αμυντικό σύστημα του ξενιστή επηρεάζεται από τη κοινή μικροχλωρίδα και αντίστροφα, καθώς η βακτηριακή αποίκιση αποτελεί προϋπόθεση ενός καλού ανοσοποιητικού συστήματος (Gordon & Pesti, 1971; Smith et al., 2007). Τα ποντίκια αυτά χαρακτηρίζονται από διαταραχές του ανοσοποιητικού τους συστήματος, με περιορισμένο αριθμό CD4 και CD8

T-λεμφοκυττάρων καθώς επίσης και μικρότερη παραγωγή IgA στο έλασμα του εντέρου (Chung et al., 2012; H.-Q. Jiang et al., 2004). Εάν, στα GF χορηγηθούν *Bacteroides thetaiotaomicron* (Hooper et al., 2001a), *Clostridium* (Itoh & Mitsuoka, 1985), *B. Fragilis*, *Lactobacillus* και *Bifidobacterium* (Kleerebezem & Vaughan, 2009) παρατηρείται σημαντική αύξηση της έκφρασης γονιδίων που συμμετέχουν στην εντερική ανάπτυξη αλλά και στις ανοσοπροστατευτικές λειτουργίες του ξενιστή.

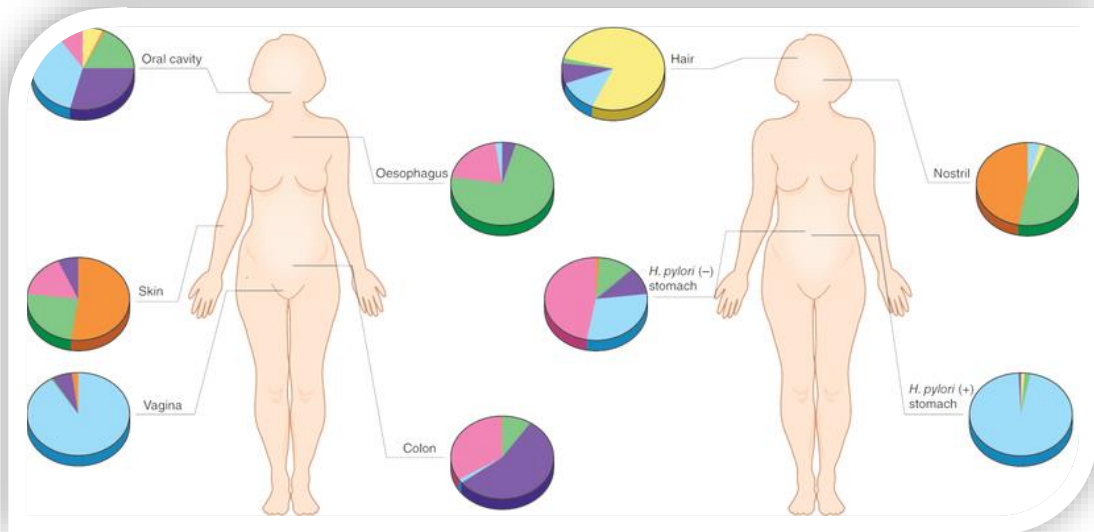


Εικόνα 1. Η λειτουργία του εντερικού φραγμού για τον περιορισμό της εντερικής μικροχλωρίδας.

## 2.2 Παράγοντες που Επηρεάζουν το Μικροβίωμα

Όπως συμβαίνει με τα ανθρώπινα κύτταρα κατά την εμβρυική ανάπτυξη, έτσι και το ανθρώπινο μικροβίωμα ακολουθεί μια πορεία ανάπτυξης και εξατομίκευσης για την κάθε περιοχή του σώματος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το δερματικό μικροβίωμα. Το δέρμα, το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος, προστατεύει τον οργανισμό από παθογόνους παράγοντες, ενώ παράλληλα φιλοξενεί στην επιφάνειά του μικροοργανισμούς που επηρεάζουν την υγεία του ξενιστή. Η διαφοροποίηση του δερματικού μικροβιώματος εξαρτάται από το σημείο του δέρματος, τους εξωγενείς περιβαλλοντικούς παράγοντες αλλά και τους ενδογενείς παράγοντες του ξενιστή (Grice & Segre, 2011). Οι παράγοντες αυτοί δημιουργούν και την ταυτότητα του ατομικού δερματικού μικροβιώματος του κάθε ατόμου ανεξάρτητα από τις τοπογραφικές αλλαγές που φέρει στην επιφάνειά του (Carroaso et al., 2011). Σχετικά σταθερή και μοναδική παραμένει και η στοματική μικροχλωρίδα. Παρά την διαπροσωπική επαφή μεταξύ δύο

ατόμων, το μικροβίωμα να μην επηρεάζεται με την πάροδο του χρόνου, δε χάνει ωστόσο την ατομική του ταυτότητα (Kort et al., 2014).



Εικόνα 2. Η διαφορετική μικροβιακή κατανομή ανά άτομο.

Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί πως οι μακροχρόνιες διατροφικές συνήθειες μπορούν να επηρεάσουν τη δομή και τη δραστηριότητα του εντερικού μικροβιώματος (David et al., 2014), ενώ τα είδη των μικροβίων που ζουν σε αυτό εξαρτώνται από το χρόνο διέλευσης της τροφής από το έντερο (Vanderputte et al., 2017). Σε αντίθεση με τη περιοχή του εντέρου, η μικροχλωρίδα του κόλπου φέρει μία μορφολογία παρόμοια σε σταθερότητα με αυτή του δέρματος. Για το λόγο αυτό η ταξινόμησή του στα διάφορα στάδια των ασθενειών ήταν πιο εύκολη και ξεκάθαρη. Οι κοιλιακές βακτηριακές διαταραχές δείχνουν να οδηγούν σε ένα παρόμοιο μικροβιακό προφίλ, δίνοντας μας έναν πιθανό βιοδείκτη της ασθένειας (Xiao et al., 2016).

### 2.2.1 Διατροφή

Η τροφή παρέχει στα μικρόβια τις θρεπτικές ουσίες που χρειάζονται για τις μεταβολικές τους δραστηριότητες. Τα προϊόντα του μεταβολισμού τους απορροφώνται από τον οργανισμό επηρεάζοντας σημαντικές φυσιολογικές διεργασίες. Με τον τρόπο αυτό η διατροφή επιδρά έμμεσα στον ξενιστή, μέσω της εντερικής μικροχλωρίδας (Albenberg & Wu, 2014).

Σε μία μελέτη ευρείας κλίμακας παρουσιάστηκε ο αντίκτυπος που έχει η διατροφή στη διαμόρφωση του εντερικού μικροβιώματος σε παιδιά από την Ευρώπη συγκριτικά με παιδιά από την Αφρική. Η διατροφή των παιδιών από τις αγροτικές περιοχές της Αφρικής περιλαμβάνει πηγές με υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες. Στην εντερική μικροχλωρίδα αυτών των παιδιών βρέθηκαν πολύ περισσότερα SCFA, σημαντικά ποσοστά σε Bacteroidetes και ελάχιστα σε Firmicutes τα οποία περιλάμβαναν βακτήρια του γένους *Prevotella* και *Xylanibacter*. Τα βακτήρια αυτά περιέχουν γονίδια για την κυτταρίνη και την υδρόλυση της ξυλάνης, γονίδια που λείπουν εντελώς από τα παιδιά της Ευρώπης, ενώ τα γένη *Shigella* και *Escherichia* υπολείπονται στα παιδιά της Αφρικής. Παρατηρώντας τα δεδομένα υποθέτουμε ότι η μικροχλωρίδα του εντέρου σε παιδιά που η βάση της διατροφής τους είναι κατά κύριο λόγο αγροτική, πλούσια σε πολυσακχαρίτες και αρκετά διαφορετική από εκείνη της σύγχρονης δυτικής διατροφής, προσαρμόζεται στις ανάγκες του οργανισμού ώστε να μεγιστοποιεί την ενεργειακή πρόσληψη από της ίνες και να προστατεύει από φλεγμονές και μη μολυσματικές εντερικές παθήσεις (De Filippo et al., 2010).

Οι μακροχρόνιες δίαιτες διαμορφώνουν την εντερική μικροχλωρίδα χωρίζοντάς την σε κατηγορίες, τους εντεροτύπους. Οι κατηγορίες αυτές, αναλύοντας δείγματα κοπράνων, κυριαρχούνται από τα *Bacteroides*, *Prevotella* και *Ruminococcus* (Wu et al., 2011). Αν και η κοινή διατροφική συνήθεια μπορεί να παρουσιάσει ομοιότητες στην εντερική μικροχλωρίδα των ανθρώπων, ωστόσο αποδεικνύεται ότι διαμέσου του μικροβιώματος το ίδιο διαιτητικό συστατικό επηρεάζει τις μετρήσεις γλυκόζης αίματος (Zeevi et al., 2015). Επιπλέον, οι μεταβολικές διεργασίες του μικροβιώματος μπορούν να επηρεάσουν τα επίπεδα λεπτίνης στον οργανισμό (Zhang et al., 2015), μίας ορμόνης που επηρεάζει την όρεξη, προκαλώντας ερωτήματα σχετικά με το άμα θα μπορούσε να επηρεάσει τις διατροφικές προτιμήσεις και να δώσει θεραπευτικές οδούς αντιμετώπισης στις ασθένειες.

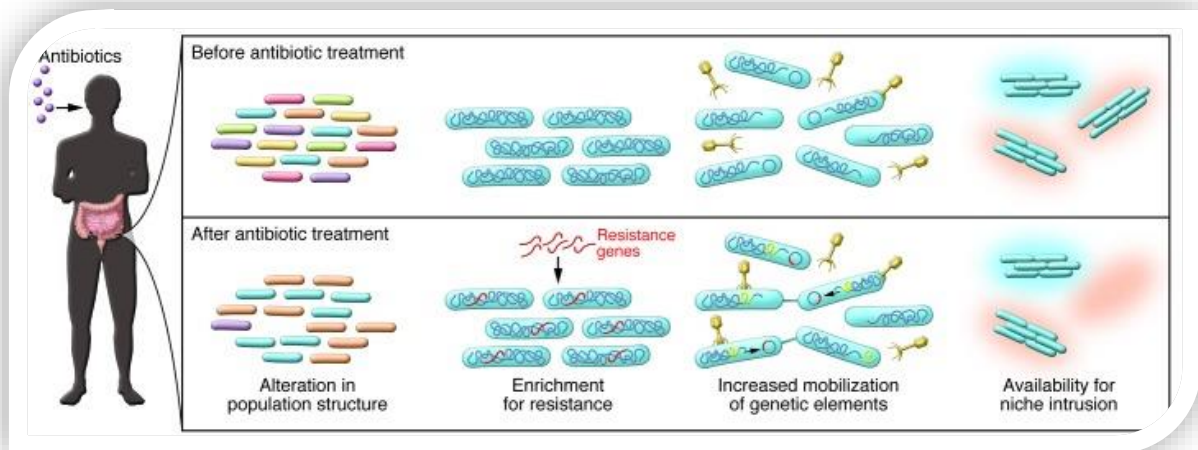
Η διατροφή είναι ο πιο εύκολα προσαρμοσμένος τρόπος επίδρασης στο εντερικό μικροβίωμα. Η παρατήρηση της αντίδρασής του στα διάφορα είδη τροφών μπορεί να μας δώσει περαιτέρω λεπτομέρειες για τον τρόπο που λειτουργεί και αντιδρά στα ερεθίσματα. Η εφαρμογή της είναι χαμηλού κινδύνου, ψυχολογικά αναίμακτη και κοινωνικά αποδεκτή. Έχοντας ήδη ενοχοποιήσει το έντερο για την αφετηρία πολλών



παθήσεων, αυτή η μέθοδος παρέμβασης θα μας επέτρεπε την δημιουργία θεραπευτικών οδών βασισμένων σε διαιτητικές παρεμβάσεις.

### 2.2.2 Αντιβιοτικά

Τα αντιβιοτικά αποτελούν μία καινοτομία όχι μόνο της ιατρικής αλλά πολλών άλλων κλάδων, όπως της γεωργίας και της κτηνοτροφίας. Ωστόσο, η ευρεία χρήση τους αποδεικνύει τις μεταβολές που μπορούν να προκαλέσουν στον οργανισμό. Τα αντιβιοτικά μειώνουν το συμβιωτικό βακτηριακό πληθυσμό του εντέρου επιτρέποντας σε παθογόνα μικρόβια να εγκατασταθούν και να αναπτυχθούν σε αυτόν. Η ικανότητά τους να μεταβάλουν τη γονιδιωματική, ταξινομική και λειτουργική συμπεριφορά της εντερικής μικροχλωρίδας κλονίζει την αμοιβαία σχέση ξενιστή-μικροβίων και τα καθιστά επικίνδυνα για την υγεία. Η θεραπεία με τη χρήση αντιβιοτικών μεταβάλλει τον πληθυσμό της αυτόχθονης μικροχλωρίδας, μειώνει την ποικιλομορφία μεταξύ των ειδών και προκαλεί αλλαγές που μπορεί να είναι παροδικές ή πιο μόνιμες και επίπονες (Modi et al., 2014).



Εικόνα 3. Μικροβιακές επιδράσεις των αντιβιοτικών στην εντερική μικροχλωρίδα.

Παρακολουθώντας του φαινοτύπους συγκεκριμένων βακτηριακών ειδών αλλά και με τη βοήθεια γονιδιωματικών και μεταγονιδιωματικών προσεγγίσεων, μελετάται η δημιουργία αντοχής στα αντιβιοτικά μέσω της μικροχλωρίδας του εντέρου. Η ικανότητα αυτή μπορεί να προέλθει είτε λόγω της μεταβλητότητας των βακτηριακών γονιδιωμάτων

(Bagel et al., 1999) είτε λόγω της μεταφοράς γενετικού υλικού από το ένα κύτταρο στο άλλο. Σε πρόσφατες μελέτες βρέθηκε ότι το μικροβίωμα αποτελεί μία πηγή με γονίδια ανθεκτικά στα αντιβιοτικά. Ο αποικισμός από τέτοιου είδους ανθεκτικά βακτήρια ξεκινάει ήδη από την 3<sup>η</sup> ημέρα της γέννησης (Koenig et al., 2011b).

Σε μία έρευνα επαναλαμβανόμενης χορήγησης αντιβιοτικών, παρατηρήθηκε ότι η χορηγούμενη σιπροφλοξασίνη επηρέασε σε βάθος και σε σύντομο χρονικό διάστημα τη μικροχλωρίδα του εντέρου, μεταβάλλοντας την ποικιλομορφία και τη σύνθεση της μικροβιακής κοινότητας (Dethlefsen & Relman, 2011). Περεταίρω έρευνες αποκαλύπτουν πως η έκθεση σε αντιβιοτικά σχετίζεται με αυξημένη μάζα σώματος, οδηγώντας σε μεταγενέστερη ανάπτυξη παχυσαρκίας (Trasande et al., 2013), IBD, άσθματος και άλλων διαταραχών (Gilbert et al., 2018).

### 2.2.3 Τρόπος Ζωής

Το μικροβίωμα επηρεάζεται από τις καθημερινές μας συνήθειες, από τον τρόπο που ζούμε, το μέρος όπου μένουμε και γενικά συμβιώνει και εξελίσσεται μαζί μας. Ενδιαφέροντα είναι τα δεδομένα της μελέτης που πραγματοποιήθηκε σε οικογένειες με σκύλους, παιδιά ή τίποτα από τα δύο. Τα στοιχεία έδειξαν ότι οι ενήλικες που είχαν στην κατοχή τους σκύλο είχαν και μεγαλύτερο ποσοστό κοινής δερματικής μικροχλωρίδας μεταξύ τους, ενώ η ομοιότητα της μικροχλωρίδας ήταν πιο κοινή με τα δικά τους σκυλιά από ότι με άλλα. Σε αντίθεση, ζευγάρια που είχαν παιδί δεν είχαν πιο κοινή εμφάνιση στο μικροβίωμα τους από ότι τα ζευγάρια χωρίς παιδί (Song et al., 2013).

Περισσότερες έρευνες σχετικά με την ιδιοκτησία κατοικίδιων δείχνουν ότι η παρουσία τους έχει συσχετιστεί με χαμηλά επίπεδα άσθματος. Αυτό συμβαίνει διότι η συνεχής έκθεση σε αλλεργιογόνα, σωματίδια και διάφορους μικροβιακούς πληθυσμούς οδηγεί τον οργανισμό στη δόμηση ενός ισχυρού ανοσοποιητικού συστήματος παρέχοντας μια ικανοποιητική ανοσολογική απόκριση στα εξωτερικά ερεθίσματα (von Mutius, 2016). Πιο ειδικά, μία σύγκριση που πραγματοποιήθηκε μεταξύ δύο πληθυσμών που καλλιεργούσαν την γη με παραδοσιακές και με βιομηχανοποιημένες μεθόδους αντίστοιχα, έδειξε πως στην πρώτη περίπτωση τα άτομα είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα άσθματος, καθώς η έκθεσή τους στο απαλλαγμένο από χημικά περιβάλλον τους βοήθησε να διαμορφώσουν μία έμφυτη ανοσολογική απόκριση (Stein et al., 2016).

Η άσκηση είναι μία ακόμη καθημερινή συνήθεια που φαίνεται να επηρεάζει το μικροβίωμα μειώνοντας την εμφάνιση φλεγμονής με τη διαμεσολάβηση των κυτοκινών. Η σωματική άσκηση χαρακτηρίζεται ως αντιφλεγμονώδης και προστατευτική έναντι της χρόνιας φλεγμονώδους νόσου. Αυτό το καταφέρνει επιδρώντας στην ανοσολογική λειτουργία του εντέρου με σκοπό την θεραπεία τέτοιων ασθενειών (Cook et al., 2016). Μικρές αλλαγές στην ανθρώπινη μικροχλωρίδα φαίνεται να προκαλεί και η απώλεια ύπνου με εμφανείς τις μεταβολικές διαταραχές των μικροβίων. Η παρουσία των Firmicutes υπερέχει έναντι των Bacteroidetes, ενώ ακόμα υπάρχουν και αυξημένοι πληθυσμοί Coriobacteriaceae και Erysipelotrichaceae που σχετίζονται με την απώλεια ύπνου. Η συγκεκριμένη συσχέτιση, ωστόσο, αποτελεί κυρίως ένδειξη εξάρτησης του ύπνου από την εντερική μικροχλωρίδα, κάτι που χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση (Benedict et al., 2016).

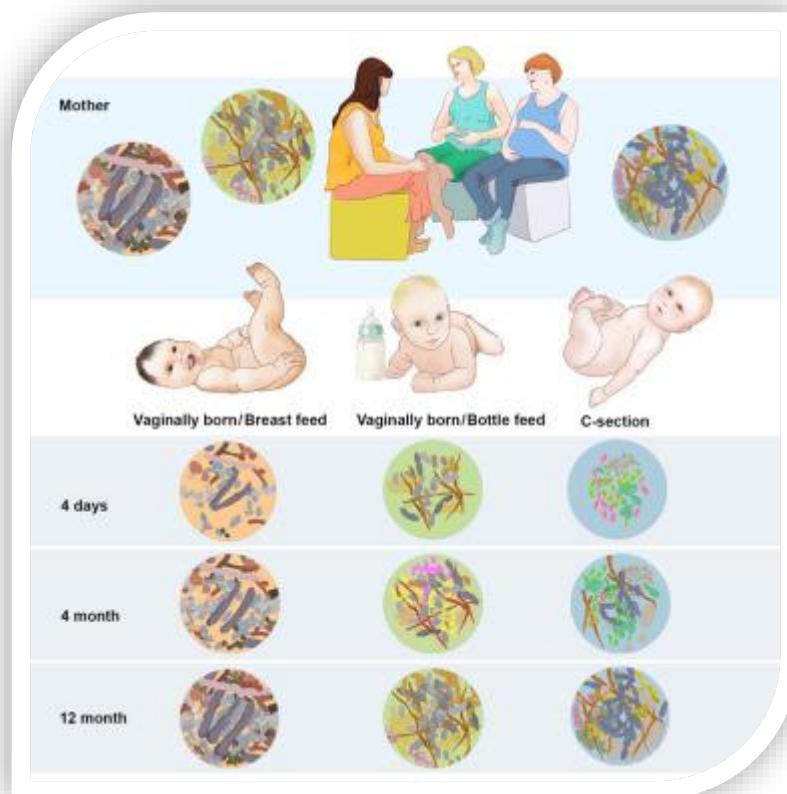
Είναι λογικό, πολλές από τις μελέτες συμπεριφοράς της μικροχλωρίδας να πραγματοποιούνται στο πλαίσιο μιας οικογένειας. Τα ζευγάρια που έχουν σεξουαλικές επαφές παρουσιάζουν μια μικροχλωρίδα αισθητά πιο όμοια από τα μέλη της οικογένειας που απλώς συνυπάρχουν στον ίδιο χώρο (Lax et al., 2014). Παίρνοντας δείγματα του πέους και του κόλπου σε ζευγάρια παρατηρούμε ότι υπάρχει αυξημένη ομοιότητα μεταξύ τους (Zozaya et al., 2016). Η συσχέτιση αυτή και οι μεταβολές που υφίσταται το μικροβίωμα κατά τις σεξουαλικές επαφές μας δίνει πιθανότητες ώστε αυτός να είναι ένας στόχος ελέγχου και καταπολέμησης των σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων.

### 2.3 Εντερική Μικροχλωρίδα

Η εντερική μικροχλωρίδα είναι η πιο μελετημένη μικροβιακή αποίκηση στο σώμα μας και αυτό λόγω της συσχέτισής της με τη λειτουργικότητα του οργανισμού ή την εμφάνιση ασθενειών. Στο έντερο ενός υγιούς ατόμου βρίσκονται κυρίως δύο αναερόβιοι βακτηριακοί τύποι, τα Bacteroidetes και τα Firmicutes. Οι διαταραχές στον πληθυσμό των δύο αυτών ομάδων μπορεί να μας υποδείξουν την εμφάνιση παχυσαρκίας, να αποτελέσουν δηλαδή ένα βιοδείκτη της γαστρεντερικής διαταραχής (Jandhyala et al., 2015). Σε μικρότερες αναλογίες βρίσκονται τα Cyanobacteria, Verrucomicrobia, Proteobacteria και Actinobacteria phyla (F. Sommer & Bäckhed, 2013). Στους

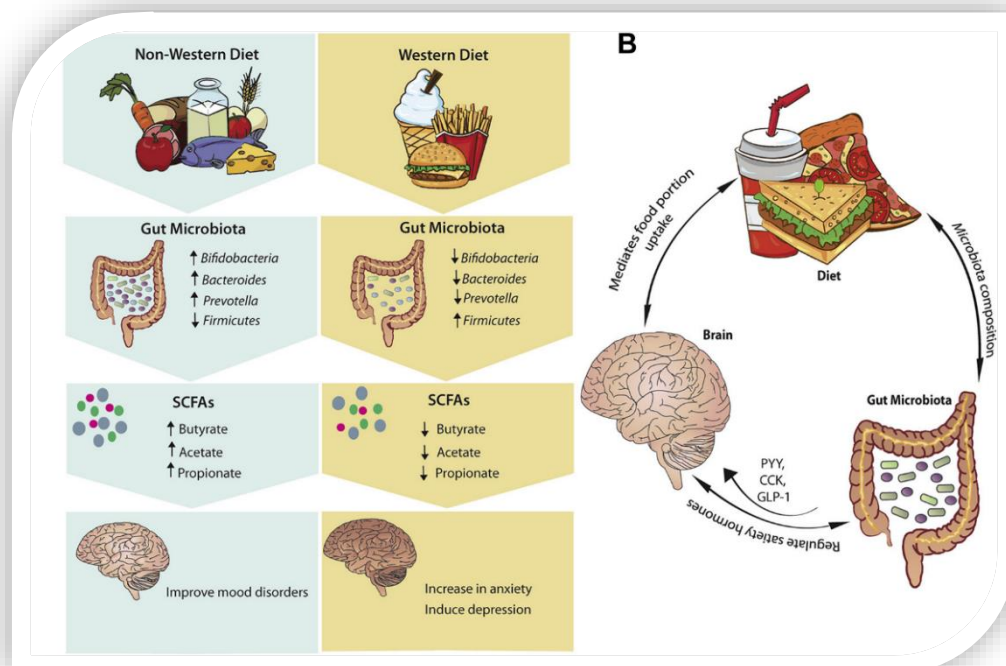
μικροβιακούς πληθυσμούς υπάρχουν αποικίες οι οποίες συμβιώνουν και ωφελούν τον ξενιστή τους, όπως το *Bifidobacterium* sp. με την αντιφλεγμονώδη δράση του (Underwood et al., 2015) και άλλοι που τον επιβαρύνουν, όπως το *Clostridium difficile* που ενοχοποιείται για διάρροιες (Peng et al., 2018).

Η πεποίθηση πως το έμβρυο αναπτύσσεται σε ένα απαλλαγμένο από μικρόβια περιβάλλον μας οδηγεί στο συμπέρασμα πως η αποίκιση του ξεκινάει αμέσως μετά την γέννηση. Οι αποικίες των *Bacteroidetes* στα βρέφη που γεννιούνται με καισαρική τομή φαίνονται να είναι αρκετά λιγότερες έως και ανύπαρκτες (Shao et al., 2019). Ειδικότερα, η μικροχλωρίδα των κοπράνων σε αυτά τα μωρά παρουσιάζει μόλις 41% ομοιότητα με αυτή της μητέρας τους, σε αντίθεση με τα μωρά που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τοκετό που τείνει να είναι σχεδόν παρόμοια (Bäckhed et al., 2015).



Εικόνα 4. Γραφική απεικόνιση της ομοιότητας του εντερικού μικροβιώματος των βρεφών με τις μητέρες τους.

Πέρα από τον τρόπο γέννησης, στη διαμόρφωση της εντερικής μικροχλωρίδας, παίζει ρόλο και η τροφή που λαμβάνει ένα βρέφος. Στα μωρά που θηλάζουν επικρατούν τα Bifidobacteria, ενώ σε αυτά που τρέφονται με μπιμπερό τα Bacteroides (Fallani et al., 2010). Αυτές οι μορφοποιήσεις του μικροβιώματος επηρεάζονται από τον περιβάλλοντα χώρο, τουλάχιστον στα πρώτα 2-3 χρόνια της ζωής τους. Έπειτα, αποκτά μία σταθερότητα, η οποία με την πάροδο των ετών οδηγεί σε μεγαλύτερες αναλογίες από Bacteroides και Clostridium, με τη μικροχλωρίδα των αιωνόβιων οργανισμών να έχει παρατηρηθεί ότι κατακλύζεται από εντεροβακτηριοειδή (Claesson et al., 2011a).



Εικόνα 5. Διατροφικές επιρροές στον άξονα εντέρου-εγκεφάλου.

Η διατροφή, τα αντιβιοτικά, το περιβάλλον και οι λοιμώξεις μπορούν να οδηγήσουν σε αυτό που αποκαλούμε «σύνδρομο διαρρέοντος εντέρου», σε μία δηλαδή αυξημένη εντερική διαπερατότητα λόγω ανθυγιεινής διαφοροποίησης της μικροχλωρίδας (Spielman et al., 2018). Όπως και στη γενικευμένη ανθρώπινη μικροχλωρίδα, έτσι και στην εντερική, ο σημαντικότερος τροποποιητικός παράγοντας που επιδρά και επηρεάζει την σύνθεση της είναι η διατροφή (Flint et al., 2012). Μία διατροφή που αποτελείται από ζάχαρη, κορεσμένα λιπαρά και κόκκινο κρέας σε μεγάλες ποσότητες, παρουσιάζει ελλιπή αποίκιση από Bacteroides, με διαταραχή των μεταβολικών οδών αλλά και της έκφρασης των γονιδίων της μικροχλωρίδας (Turnbaugh et al., 2009a). Η μεσογειακή διατροφή, αντίθετα, η οποία περιλαμβάνει μεγάλη ποικιλία

φρούτων και λαχανικών, δημητριακών και μικρότερη κατανάλωση κόκκινου κρέατος οδηγεί σε αύξηση των Bacteroides, μειώνοντας τις αποικίες των Firmicutes και δημιουργώντας μία πιο ισορροπημένη και ποικιλόμορφη μικροχλωρίδα (Turnbaugh et al., 2009b). Η διαμόρφωση της μικροχλωρίδας με βάση τη μεσογειακή διατροφή αποτελεί ένα νευροπροστατευτικό παράγοντα που συμβάλει στην καλή γνωστική λειτουργία και στη μείωση εμφάνισης ασθενειών, όπως της νόσου Alzheimer (Gardener et al., 2012).

Στην αύξηση του αποικισμού από Clostridium μπορεί να οδηγήσει και το στρες σε συνδυασμό με τις γρήγορες απαιτήσεις του σημερινού τρόπου ζωής. Οι διαταραχές που προκαλούνται από τις καθημερινές στρεσογόνους καταστάσεις που αντιμετωπίζουμε καθημερινά, όπως το άγχος και η κατάθλιψη, επιδρούν στη μικροχλωρίδα μεταβάλλοντας την ποικιλομορφία της (Molina-Torres et al., 2019). Είναι, ακόμα, πρακτικά δύσκολο να γίνει διαχωρισμός των συμβιωτικών από τα παθογόνα βακτήρια ώστε να μπορέσουμε να στοχεύσουμε σε αυτά για την αντιμετώπιση ασθενειών. Μέχρι στιγμής τα αντιβιοτικά, πολύ περισσότερο όταν καταναλώνονται μακροπρόθεσμα, δεν έχουν την ικανότητα διαχωρισμού των δύο αυτών κατηγοριών με αποτέλεσμα να στοχεύουν και στα επιβλαβή αλλά και στα ωφέλιμα βακτήρια (Ianiro et al., 2016).

Η διατήρηση μιας ισορροπημένης υγιούς και ποικιλόμορφης εντερικής μικροχλωρίδας βασίζεται στους παράγοντες που πλαισιώνουν τον καθημερινό τρόπο ζωής μας. Η σωστή διατροφή, τα χαμηλά επίπεδα στρες, η ελεγχόμενη χρήση αντιβιοτικών και η άσκηση μπορούν να βελτιώσουν μια πιθανή εντερική δυσβολία. Οι ισορροπίες μεταξύ των συμβιωτικών και των παθογόνων βακτηρίων είναι λεπτές, γι' αυτό και η μελέτη του άξονα εντέρου-εγκεφάλου μας βοηθάει να κατανοήσουμε τα μηνύματα που στέλνονται από τη GIT στο ΚΝΣ και κατ' επέκταση σε όλο το σώμα.

### 2.3.1 Η Σημασία μιας Υγιούς Μικροχλωρίδας

Με βάση τις μελέτες που προκύπτουν από την παρακολούθηση μιας διαταραγμένης μικροχλωρίδας, αντιλαμβανόμαστε πόσο σημαντική είναι η ομοιόσταση της GIT. Οι διαταραχές τις περνάνε στο ΚΝΣ επηρεάζοντας τον εγκέφαλο και παρουσιάζοντας διάφορες ψυχοκοινωνικές διαταραχές. Η σεροτονίνη (5-HT), νευροδιαβιβαστής που

παράγεται από κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα, ρυθμίζει τη διάθεση και την όρεξη στον οργανισμό. Η συμμετοχή της στη νευρική δραστηριότητα και στις νευροψυχολογικές διεργασίες έχει θέσει τους υποδοχείς της 5-HT ως στόχους φαρμάκων στην νευρολογία και την ψυχιατρική (Berger et al., 2009).

Μελέτες σε ποντίκια GF έδειξαν αυξημένα επίπεδα τρυπτοφάνης στο πλάσμα, ενός πρόδρομου αμινοξέως της 5-HT, και μειωμένα επίπεδα 5-HT στον ορό. Οι αναφορές αυτές δείχνουν μία οδό μέσω της οποίας η μικροχλωρίδα μπορεί να επηρεάσει τη σεροτονινεργική νευροδιαβίβαση του ΚΝΣ. Παρά την αποκατάσταση των επιπέδων της τρυπτοφάνης η σύνδεση αυτή είναι δύσκολο να επανέλθει όταν έχει διαταραχθεί η φυσιολογική μικροχλωρίδα από νεαρή ηλικία, ακόμη και έπειτα από την αποκατάστασή της (Clarke et al., 2013a). Επιπλέον αναζητήσεις έδειξαν πως η απουσία μικροβίων στα ζώα συνεπάγεται με μειωμένη έκφραση BDNF, ενός σημαντικού νευροτροφικού παράγοντα αλλά και με προβλήματα συμπεριφοράς, κοινωνικοποίησης και εκμάθησης (Heijtz et al., 2011).

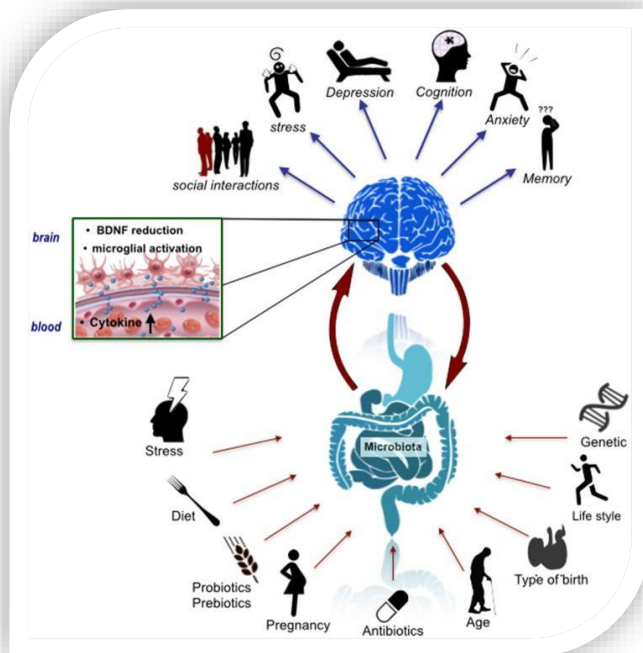
Η χρήση των ποντικών GF μας έχει δώσει ένα πλήθος μελετών όχι μόνο για την παρατήρηση της εντερικής μικροχλωρίδας αλλά και για πιθανούς τρόπους αξιοποίησης της ως θεραπευτικό στόχο σε διάφορες ασθένειες. Ωστόσο, η έρευνα υπό αυτές τις συνθήκες είναι περισσότερο δαπανηρή απ' ό,τι η χρήση αντιβιοτικών. Με τα αντιβιοτικά μπορούμε να ελέγξουμε την επίδραση που έχουν στη μικροχλωρίδα, τις αλλαγές που προκαλούν στις βακτηριακές αποικίες αλλά και τις επιπτώσεις που υφίσταται ο εγκέφαλος λόγω της άμεσης σύνδεσής του με το έντερο (Kennedy et al., 2018). Η χορήγηση αντιβιοτικών σε ποντίκια έχει δείξει πως οι αλλοιώσεις που προκαλούν στη μικροχλωρίδα ευθύνονται για νευρολογικές διαταραχές, άγχος και άλλες παθολογικές καταστάσεις του εγκεφάλου (P. Wang et al., 2021).



### Κεφάλαιο 3. Άξονας Εντέρου-Εγκεφάλου

Ένα πλήθος ασθενειών της σύγχρονης κοινωνίας είναι αποδεδειγμένο ότι οφείλεται στη σχέση που δημιουργείται μεταξύ του γαστρεντερικού σωλήνα και του ΚΝΣ. Σε αυτές τις ασθένειες υπάρχει ένα κοινό σημείο μελέτης: ο «άξονας εντέρου-εγκεφάλου», αν αναφερόμαστε στη σύνδεση από κάτω προς τα πάνω ή ο «άξονας εγκεφάλου-εντέρου», αν η αναφορά γίνεται από πάνω προς τα κάτω. Η επικοινωνία των δύο αυτών οργάνων είναι αμφίδρομη και βασίζεται σε ένα δυναμικό και διαδραστικό δίκτυο μέσω των νευροδιαβιβαστών, των φλεγμονωδών κυτοκινών, του πνευμονογαστρικού νεύρου (VN) και του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA) (Karakanetal., 2021)(Bercik et al., 2012). Πρόκειται για μία συνεχή συνομιλία μεταξύ του εντέρου και του εγκεφάλου που φαίνεται, πέρα από την ρύθμιση της γαστρεντερικής ομοιόστασης και πέψης, να επιδρά στα κίνητρα και τις υψηλότερες γνωστικές λειτουργίες (Mayer, 2011).

Ψυχοκοινωνικοί παράγοντες που επηρεάζουν την GIT:



1. Διατροφή
2. Γενετική
3. Φάρμακα
4. Περιβάλλον
5. Άσκηση
6. Γνωστική συμπεριφορά
7. Άγχος
8. Κοινωνικές αλληλεπιδράσεις
9. Φόβος.

Εικόνα 6. Παράγοντες που επηρεάζουν τον άξονα εντέρου-εγκεφάλου.



Το έντερο και ο εγκέφαλος αποτελούν δύο καλά δομημένα όργανα και η μεταξύ τους αμφίδρομη επικοινωνία είναι ένα πολύπλοκο αλλά καλά συντονισμένο κύκλωμα. Μέσω αυτού διέρχονται πληροφορίες από συναισθηματικά και διαγνωστικά κέντρα του εγκεφάλου στην περιφερειακή λειτουργία του γαστρεντερικού σωλήνα με τη χρήση νευροδιαβιβαστών (Gaman & Kuo, 2008). Η μεταξύ τους επικοινωνία εκκρίνει ένα πλήθος μεταβολιτών, όπως είναι τα SCFA, μόρια σηματοδότησης και δομικά συστατικά των βακτηρίων (Doroszkiwicz et al., 2021a). Σε μία περιοχή του εγκεφάλου, εντός του ΚΝΣ, βρίσκεται το κέντρο ελέγχου του εντέρου, το στεφανιαίο σύστημα (Jones et al., 2006), το οποίο σχετίζεται με την εκδήλωση συναισθημάτων και ενστικτωδών αντιδράσεων. Η βλάβη του μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχές συμπεριφοράς, όπως βίαιες, υπερσυναισθηματικές ή παρορμητικές αντιδράσεις.

Συναισθήματα, λοιπόν, όπως ο φόβος, το στρες, το άγχος, ο θυμός μπορούν να προκαλέσουν γαστρεντερικές δυσλειτουργίες κατά την γαστρική κένωση ή τη διέλευση κατά μήκος του εντέρου. Πιο συγκεκριμένα, το ψυχολογικό στρες μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργική δράση του βλεννογόνου, ο οποίος μεταβάλλεται από τα βακτηριακά κυτταρικά προϊόντα και να οδηγήσει σε γαστρεντερικό πόνο και διάρροια. Σε αντίθεση με τα παραπάνω και καθώς μιλάμε για αμφίδρομη δράση/επικοινωνία, η αυξημένη κινητικότητα και η πιθανή φλεγμονή ή τραυματισμός του εντέρου μπορούν να προκαλέσουν ψυχολογικές διαταραχές, όπως άγχος και κατάθλιψη (Mayer et al., 2015).

Η αναφορά στον άξονα εντέρου-εγκεφάλου τα πρώτα χρόνια μελέτης του αφορούσε στον μηχανισμό που συνδέει το εγκεφαλονωτιαίο υγρό με τα επίπεδα χολοκυστοκινίνης πλάσματος (CCK) σε αναισθητοποιημένους σκύλους και την πιθανή επίδραση από τη βομβεσίνη (BBS). Πλέον αφορά οποιαδήποτε αλληλεπίδραση μεταξύ του εντερικού νευρικού συστήματος (ΕΝΣ) και του ΚΝΣ (Banks, 1980). Πάνω σε αυτή τη συσχέτιση βασίζονται όλο και περισσότερες μελέτες, μέρος των οποίων αναφέρονται παρακάτω.

Είναι, πλέον, αποδεδειγμένο πως τα εντερικά βακτήρια επηρεάζουν την ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος. Επίσης, υπάρχουν μελέτες οι οποίες αποδεικνύουν πως αυτοί οι μικροοργανισμοί μπορούν να επέμβουν και να επηρεάσουν εξίσου την εγκεφαλική λειτουργία και συμπεριφορά. Σε ασθενείς με ηπατική εγκεφαλοπάθεια, μία ασθένεια που προκαλεί νευροψυχιατρικές διαταραχές και

προέρχεται από επιπλοκές της ηπατικής νόσου, οι κλινικοί ιατροί τείνουν να χορηγούν το αντιβιοτικό ριφαξιμίνη. Η ριφαξιμίνη δεσμεύει την βακτηριακή αμμωνία που εκκρίνεται στο έντερο και ενοχοποιείται για την παθογένεση της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας. Η απέκκρισή της γίνεται μέσω των κοπράνων, σχεδόν σε όλη της τη συγκέντρωση (BASS, 2007). Η παρατεταμένη χρήση αντιβιοτικών μπορεί να διαταράξει τη φυσιολογική μικροχλωρίδα δημιουργώντας ένα περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσονται και επικρατούν είδη που παράγουν τοξίνες. Τα κλωστηρίδια είναι μία ομάδα που εμπλέκεται με την αυτιστική διαταραχή λόγω των ισχυρών νευροτοξινών που παράγουν. Συγκεκριμένα είδη της τάξης των κλωστηριδίων έχουν βρεθεί σε δείγματα κοπράνων αυτιστικών παιδιών, σε αντίθεση με τα υγιή άτομα (Parracho et al., 2005). Αν και οι μελέτες που αφορούν τον αυτισμό είναι περιορισμένες, μέχρι σήμερα είναι εμφανής η αλληλεπίδραση που έχει το έντερο με τις εγκεφαλικές διαταραχές.

Η χρήση αντιβιοτικών έχει παρατηρηθεί πως μπορεί να οδηγήσει σε ψυχωτικές διαταραχές. Η d-αλανίνη, η οποία παράγεται ως επί το πλείστο από τη βακτηριακή μικροχλωρίδα, επηρεάζει τη λειτουργία του NMDA υποδοχέα. Ο NMDA υποδοχέας συμβάλει στη μεταβίβαση σημάτων μεταξύ των εγκεφαλικών κυττάρων ενώ η υπολειτουργία του οδηγεί σε ψυχωτικές και επιληπτικές κρίσεις που οφείλονται κατά μεγάλη πιθανότητα στη μεταβολή της μικροχλωρίδας και στην περιορισμένη παραγωγή d-αλανίνης από αυτήν (Mehdi, 2010). Έχουν υπάρξει μελέτες που επικεντρώνονται στην ασθένεια του αυτισμού με βάση τις κοινωνικές και επικοινωνιακές συμπεριφορές, όπως η χορήγηση d-κυκλοσερίνης, με εμφανή θετικά αποτελέσματα στις διαπροσωπικές σχέσεις των αυτιστικών ατόμων (Posey et al., 2004). Χαρακτηριστική είναι και η προδιάθεση του γυναικείου φύλου στην ψυχική κατάθλιψη όταν παρατηρούνται σύνδρομα δυσαπορρόφησης λακτόζης και φρουκτόζης.

Οι έρευνες που αναφέρθηκαν θέτουν τις βάσεις για αναζήτηση και περαιτέρω διερεύνηση. Υπάρχουν, ωστόσο, άμεσες μελέτες που αποδεικνύουν την επίδραση της εντερικής χλωρίδας στο ΚΝΣ. Σε τρωκτικά, στα οποία έχει προκληθεί λοίμωξη με το παθογόνο *Campylobacter jejuni*, παρατηρήθηκε άμεση αλλαγή της συμπεριφοράς και εμφάνιση αγχώδους κατάστασης σε στάδιο που προηγούνταν αρκετά από την εμφάνιση συμπτωμάτων της ασθένειας ή της ανοσολογικής απόκρισης (Gaykema et al., 2004; Lyte et al., 1998). Η μόλυνση με το *C. Jejuni* (Goehler et al., 2008) αλλά και με το *Citrobacter*

rodentium (LYTE et al., 2006), παρουσιάζει τις οδούς που μεσολαβούν και με τις οποίες μία γαστρεντερική βακτηριακή λοίμωξη μπορεί να μεταδώσει σήματα σε τμήματα του εγκεφάλου, επηρεάζοντας τα επίπεδα άγχους και στρες.

### 3.1 Σύνδεση των Κοινών Βακτηρίων και του ΚΝΣ

Υπάρχουν διάφορες ερευνητικές προσεγγίσεις οι οποίες αναζητούν και μπορούν να αποδείξουν τη σύνδεση των κοινών παθογόνων του εντέρου με το ΚΝΣ. Ερευνητές μελέτησαν την αντίδραση του άξονα ΗΡΑ σε ένα πληθυσμό ποντικών GF σε σύγκριση με αυτά που έφεραν μικρόβια. Παρατήρησαν πως υπάρχει σημαντική διαφορά στα επίπεδα της αδρενοκορτικοτρόπου ορμόνης ACTH και της κορτικοστερόνης στην πρώτη ομάδα ποντικών ως απάντηση στη δοκιμασία στρες στην οποία υποβλήθηκαν. Ακόμη, στα ποντίκια αυτά βρέθηκαν χαμηλότερα επίπεδα BDNF, μιας πρωτεΐνης που ανιχνεύεται στον εγκέφαλο και παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική νευρική ανάπτυξη. Η παρατήρηση αυτή δείχνει πως ο αποικισμός από εντερικά μικρόβια μπορεί να επηρεάσει την ενδοκρινή απόκριση του οργανισμού απέναντι σε καταστάσεις στρες (Sudo et al., 2004).

Η δυνατότητα διαχωρισμού αυτών των δύο ομάδων ποντικών έγινε η αφορμή για περαιτέρω πειράματα βασιζόμενα σε αυτήν την ιδέα, παρουσιάζοντας την ικανότητα των εντερικών βακτηρίων να επηρεάζουν τις μεταβολικές, ανοσολογικές και φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού. Ο αποικισμός ποντικών με ένα μόνο κοινό βακτήριο της φυσιολογικής εντερικής μικροχλωρίδας του ανθρώπου αλλά και του ποντικού, το *Bacteroides thetaiotaomicron*, έδειξε πως το βακτήριο αυτό είναι ικανό να επηρεάσει την έκφραση μιας ποικιλίας γονιδίων που αφορούν το μεταβολισμό, την αγγειογένεση, την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών, την εντερική διαπερατότητα, την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών κ.α. (Hooper et al., 2001b).

Μία ακόμα έρευνα βασιζόμενη στην παραπάνω ιδέα αποδεικνύει πως η εντερική μικροχλωρίδα επηρεάζει τη χημεία και τη συμπεριφορά του εγκεφάλου. Η μέθοδος βασίστηκε στη χορήγηση μη απορροφήσιμων αντιμικροβιακών ουσιών σε ποντίκια. Τα αντιμικροβιακά νεομυκίνη, βακιτρακίνη και πιμαρικήνη που χρησιμοποιήθηκαν προκάλεσαν αλλαγές στη μικροχλωρίδα του εντέρου οι οποίες

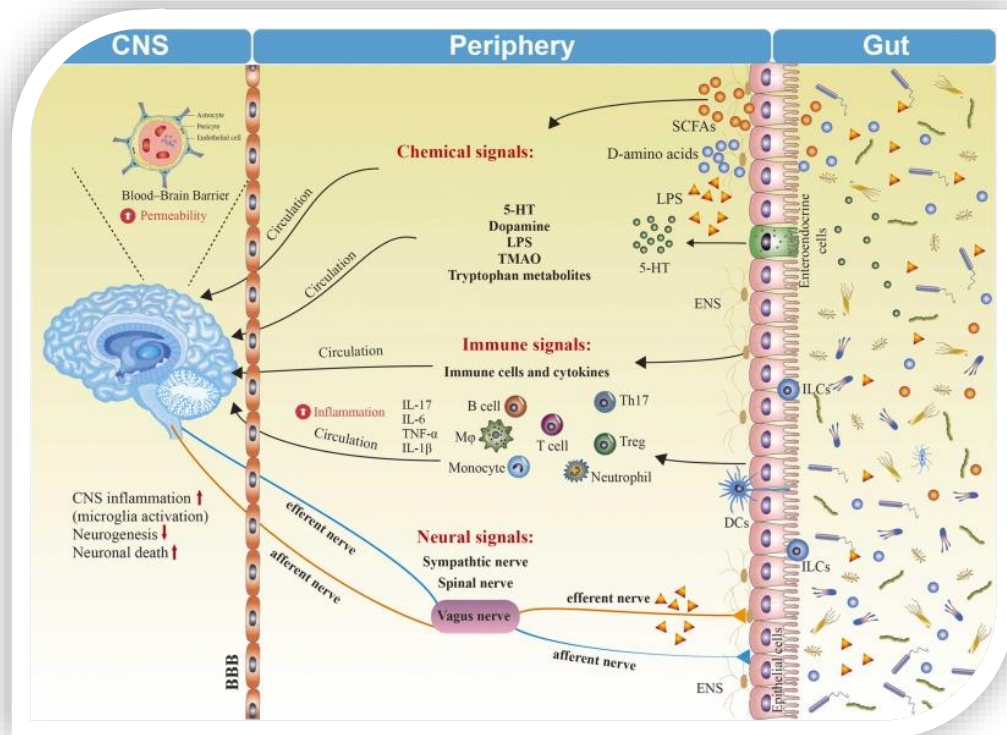
ωστόσο ήταν αναστρέψιμες. Επίσης η διαταραχή της μικροχλωρίδας παρουσίασε αύξηση της διερευνητικής συμπεριφοράς και αλλοίωση των επιπέδων του νευροτροπικού παράγοντα στον υπόκαμπο και την αμυγδαλή. Η χορήγηση της ίδιας αντιμικροβιακής θεραπείας σε ποντίκια χωρίς παθογόνα δεν παρουσίασε προβλήματα στη συμπεριφορά των ζώων (Bercik et al., 2011).

Ένας μεγάλος αριθμός νευροδιαβιβαστών και μεταβολιτών παράγονται από τα μικρόβια του εντέρου και δρουν τοπικά σε αυτό. Μέσω των οδών σύνδεσης αυτές οι χημικές ουσίες είναι ικανές να επηρεάσουν τις λειτουργίες του ΚΝΣ, μεταδίδοντας ερεθίσματα από και προς τον εγκέφαλο.

### 3.2 Μικροβιακοί Μεταβολίτες

Τα μικρόβια παράγουν διάφορες ουσίες που λειτουργούν ως νευροδιαβιβαστές μεταξύ του εντέρου και του εγκεφάλου. Οι ουσίες αυτές συμμετέχουν στις οδούς σύνδεσης του εντέρου με το ΚΝΣ επηρεάζοντας με τον έμμεσο αυτό τρόπο τον εγκέφαλο. Οι κύριες ουσίες που παράγονται από τη μικροχλωρίδα είναι τα SCFA, τα χολικά οξέα και τα αρωματικά αμινοξέα. Στα SCFA περιλαμβάνονται κυρίως το βουτυρικό, το οξικό και το προπιονικό οξύ. Τα οξέα αυτά συνδέονται με G-πρωτεΐνες ώστε να μπορούν να αλληλοεπιδράσουν με την περιοχή του εντέρου (Priori et al., 2015).

Στον άξονα εντέρου-εγκεφάλου οι κύριες οδοί επικοινωνίας επεκτείνονται μεταξύ του ΚΝΣ, της περιφέρειας και του εντέρου. Σε όλο το μήκος του άξονα το δίκτυο νευρωνικών, ανοσολογικών και χημικών σημάτων αποτελεί σημαντικό ρυθμιστικό παράγοντα καθώς οι μεταβολές που συμβαίνουν σε αυτά προκαλούν διαταραχή της ομοιόστασης του οργανισμού. Η λειτουργία του ΚΝΣ και η επικοινωνία του με τα περιφερειακά όργανα και τους ιστούς βασίζεται στη νευρική ρύθμιση μέσω νευροδιαβιβαστών, ανοσολογικών σημάτων και άλλων παραγόντων. Με αυτούς τους τρόπους ο εγκέφαλος επεξεργάζεται τα αντανακλαστικά σήματος που λαμβάνει διατηρώντας ταυτόχρονα την ισορροπημένη αμφίδρομη επικοινωνία του με το έντερο. Η αλλοίωση των σημάτων αυτών προερχόμενη από μεταβολές του μικροβιώματος αλλά και από τους μεταβολίτες που προκύπτουν από αυτό μπορούν να οδηγήσουν στην εμφάνιση νοσημάτων, όπως η κατάθλιψη (Chang et al., 2022a).

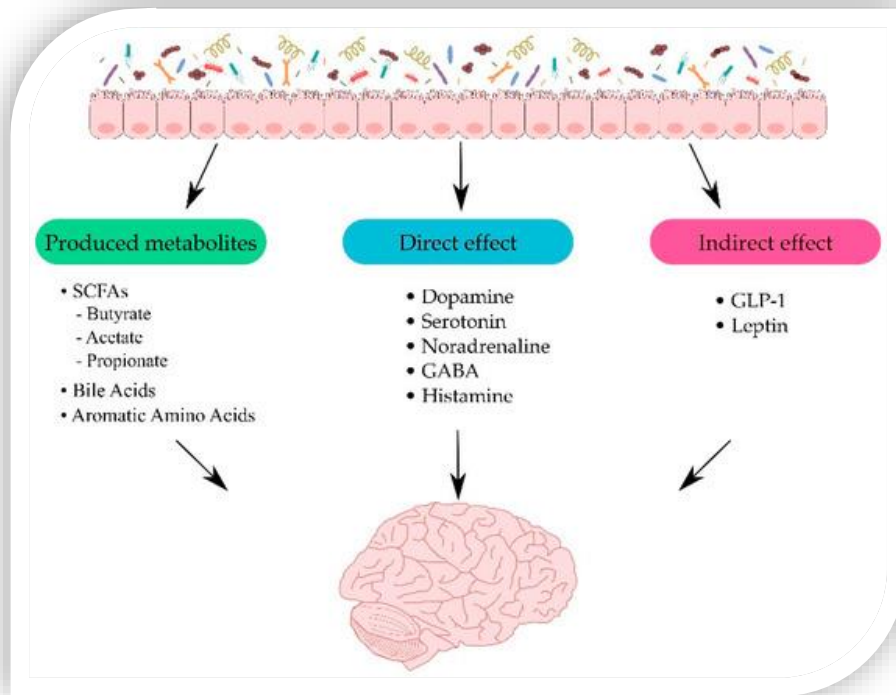


Εικόνα 7. Η δράση του άξονα εντέρου-εγκεφάλου στο σώμα.

Οι νευροδιαβιβαστές που παράγονται στην εντερική μικροχλωρίδα μπορεί είτε να παράγονται από τα βακτήρια είτε να προέρχονται από τη διάσπαση τροφής. Τα επίπεδα τους στο έντερο μπορούν να επηρεάσουν και τα αντίστοιχα επίπεδα στον εγκέφαλο του ξενιστή. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η *Escherichia coli* που μπορεί να παράγει ντοπαμίνη, νοραδρεναλίνη και σεροτονίνη και οι γαλακτοβάκυλλοι που παράγουν σεροτονίνη, ακετυλοχολίνη, GABA και ισταμίνη (Doroszkiewicz et al., 2021b). Ειδικότερα, τα SCFA απελευθερώνουν ορμόνες του εντέρου μέσω εντεροενδοκρινικών κυττάρων, όπως το πεπτίδιο-1 τύπου γλυκαγόνης (GLP-1) και τη λεπτίνη, οι οποίες αλληλεπιδρούν με το VN και τους υποδοχείς του εγκεφάλου επηρεάζοντας τη σύνδεσή του με το έντερο (Tolhurst et al., 2012).

Οι μεταβολικές αυτές βακτηριακές διεργασίες αποδεικνύεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο σε ένα πλήθος νευρολογικών ασθενειών. Η νόσος του Parkinson (PD) και η νόσος του Alzheimer (AD) ανήκουν σε αυτές. Η μεταφορά των πληροφοριών από το έντερο προς τον εγκέφαλο μπορεί να γίνει είτε με την παραγωγή μεταβολιτών, όπως των

SCFA, είτε απευθείας μέσω των νευροδιαβιβαστών (π.χ. σεροτονίνη, ντοπαμίνη), είτε τέλος με την απελευθέρωση εντερικών ορμονών.



Εικόνα 8. Οδοί επικοινωνίας του εντέρου με το ΚΝΣ.

### 3.2.1 Λιπαρά Οξέα Βραχείας Αλυσίδας

Τα SCFA παράγονται από τα βακτήρια του εντέρου και δρώντας μέσω FFARs σε ανοσολογικά κύτταρα, εντεροενδοκρινικά κύτταρα (EEC), κύτταρα εντεροχρωμαφίνης (ECC), επιθηλιακά κύτταρα και σε ενδογενείς και εξωγενείς νευρώνες, ρυθμίζουν την κινητικότητα, τη σηματοδότηση και την έκκριση εντέρου-εγκεφάλου. Επιπλέον, το οξικό, το βουτυρικό και το προπιονικό οξύ που προέρχονται από τη βακτηριακή ζύμωση στο μικροβίωμα ρυθμίζουν την ομοίωση των μικρογλοίων. Τα ποντίκια GF και με ανεπάρκεια του υποδοχέα SCFA FFAR2 παρουσίασαν ελαττώματα μικρογλοίας, γεγονός που επιβεβαιώνει πως τα βακτήρια του εντέρου ρυθμίζουν την ωρίμανση και τη λειτουργία των μικρογλοίων και πως η αντιμετώπιση της βλάβης μπορεί έως ένα βαθμό να βελτιωθεί επεμβαίνοντας στη μικροβιακή σύνθεση (Erny et al., 2015).

Μία ακόμα δράση των SCFA είναι η παραγωγή νευροδιαβιβαστών, την οποία ρυθμίζουν μέσω της ρυθμιζόμενης έκφρασης των αντίστοιχων ενζύμων. Η in vitro χορήγηση προπιονικού και βουτυρικού άλατος σε νευροβλαστικά κύτταρα αύξησε την έκφραση της υδροξυλάσης τυροσίνης, ενός ενζύμου που εμπλέκεται στη σύνθεση

νοραδρεναλίνης και ντοπαμίνης. Σε αντίστοιχη περίπτωση, *in vivo*, δεν είναι ακόμη ξεκάθαρο εάν οι μικροβιακοί μεταβολιτές μπορούν να ελέγξουν τη νευροδιαβίβαση. Το πρόβλημα βρίσκεται στο χρόνο ημίσειας ζωής τους, ο οποίος δεν ξεπερνά τις τρεις ώρες, κάνοντας δύσκολο τον υπολογισμό του χρόνου που απαιτείται ώστε αυτοί να φτάσουν από το έντερο στις περιοχές του εγκεφάλου. Για το λόγο αυτό οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιούνται στις πειραματικές μελέτες ξεπερνούν κατά πολύ τις παραγόμενες από το μικροβίωμα συγκεντρώσεις (Margolis et al., 2021a).

### 3.2.2 Σεροτονίνη

Η 5-HT είναι ένας νευροδιαβιβαστής που παράγεται στον εγκέφαλο, στα αιμοπετάλια και στο έντερο. Ως εκ τούτου η μικροχλωρίδα του εντέρου συμμετέχει και καθορίζει τα επίπεδα παραγωγής της εντερικής 5-HT. Έχει παρατηρηθεί πως τα ποντίκια GF παρουσιάζουν μειωμένη παραγωγή του νευροδιαβιαστή στο παχύ έντερο και χαμηλές συγκεντρώσεις στο αίμα. Σημαντικός φαίνεται να είναι και ο ρόλος των SCFA καθώς και άλλων δευτερογενών χολικών οξέων στη βιοσύνθεση του (Agus et al., 2018).

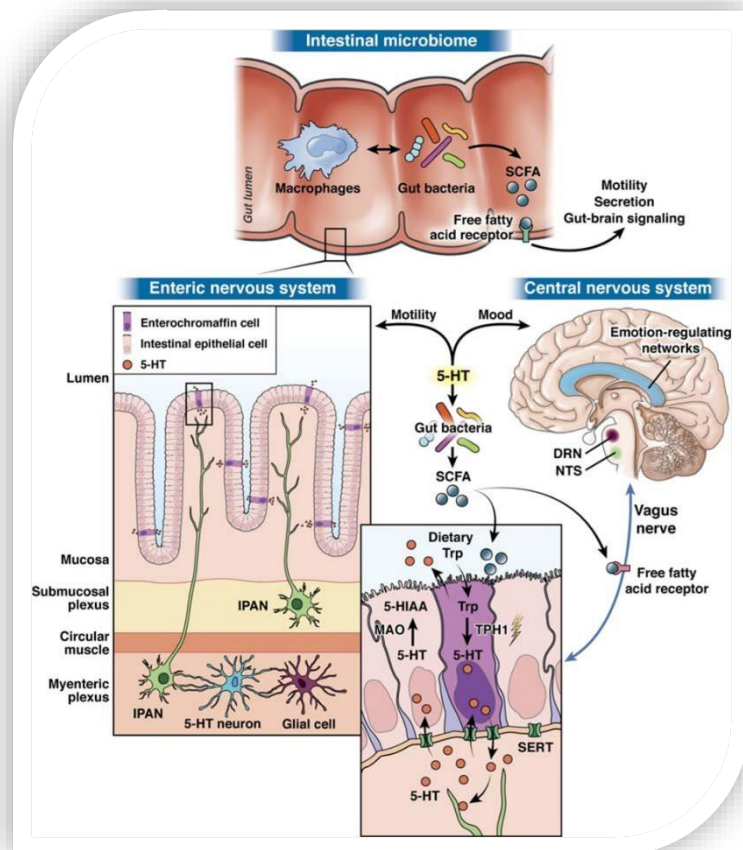
Όπως αναφέρθηκε, το VN δεν αλληλεπιδρά άμεσα με την εντερική μικροχλωρίδα. Η διέγερσή του μπορεί να γίνει από την παραγωγή βακτηριακών μεταβολιτών ή να επηρεαστεί μέσω μικροβιακής διαμόρφωσης των EECs και των ECCs στο εντερικό επιθήλιο. Πιο συγκεκριμένα, τα βακτήρια του εντέρου παράγουν μεταβολίτες SCFA οι οποίοι παίρνουν μέρος στις διάφορες εντερικές λειτουργίες, κυρίως στην έκκριση, τη φλεγμονή και την κινητικότητα. Τα SCFA διεγείρουν την υδροξυλάση τρυπτοφάνης-1 συνθέτοντας τη 5-HT με μετέπειτα έκκριση της από τα ECC.

Η 5-HT μετά την απελευθέρωσή της από τα εντερικά κύτταρα συνδέεται με νευρικούς υποδοχείς στο ΕΝΣ ώστε να ρυθμίσει την κινητικότητα του εντέρου και στην πορεία τη νευρωνική ανάπτυξη και διαφοροποίησή του. Οι περιοχές των νευρώνων 5-HT συνδέονται με τα δίκτυα εγκεφάλου που είναι υπεύθυνα για την εκδήλωση συναισθημάτων επηρεάζοντας με αυτόν τον τρόπο τη διάθεση του ατόμου. Σε μια άλλη περίπτωση διέγερσης, τα SCFA που προέρχονται από τα βακτήρια του εντέρου μπορούν να διεγείρουν άμεσα τους υποδοχείς ελεύθερων λιπαρών οξέων σε ένα πλήθος διαφορετικών κυττάρων. Τα κύτταρα που εμπλέκονται μπορεί να είναι ανοσοκύτταρα, επιθηλιακά, νευρικά, ECC καθώς επίσης και του πνευμονογαστρικού νεύρου και των



πρωτογενών προσαγωγών νευρώνων. Αυτού του είδους η πιο άμεση σηματοδότηση μπορεί να διαμορφώσει εξίσου τις λειτουργίες του εντέρου, όπως η έκκριση και η κινητικότητα (Margolis et al., 2021a).

Η 5-HT δείχνει να παίζει σημαντικό ρόλο στην αμφίδρομη σχέση του άξονα εντέρου-εγκεφάλου αποτελώντας ένα μέσω επικοινωνίας της εντερικής μικροχλωρίδας με τμήματα του εγκεφάλου. Οι έρευνες έχουν δείξει πως το 90% της σύνθεσης 5-HT στο ανθρώπινο σώμα παράγεται από τα ECC, ενώ τα επίπεδά της και η απελευθέρωσή της διαμορφώνεται από τα SCFA και 2Bas που παράγονται από τα Clostridiales (Reigstad et al., 2015). Επίσης, το αυτόνομο νευρικό σύστημα (ΑΝΣ) μπορεί να ενεργοποιήσει τα ECC προς απελευθέρωση 5-HT στον αυλό του εντέρου όπου στη συνέχεια θα απορροφηθεί από μηχανισμούς παρόμοιους με αυτούς των μεταφορέων 5-HT επηρεάζοντας με αυτόν τον τρόπο την εντερική μικροχλωρίδα (Sgritta et al., 2019).



Εικόνα 9. Η σεροτονίνη στη ρύθμιση του άξονα εντέρου-εγκεφάλου.



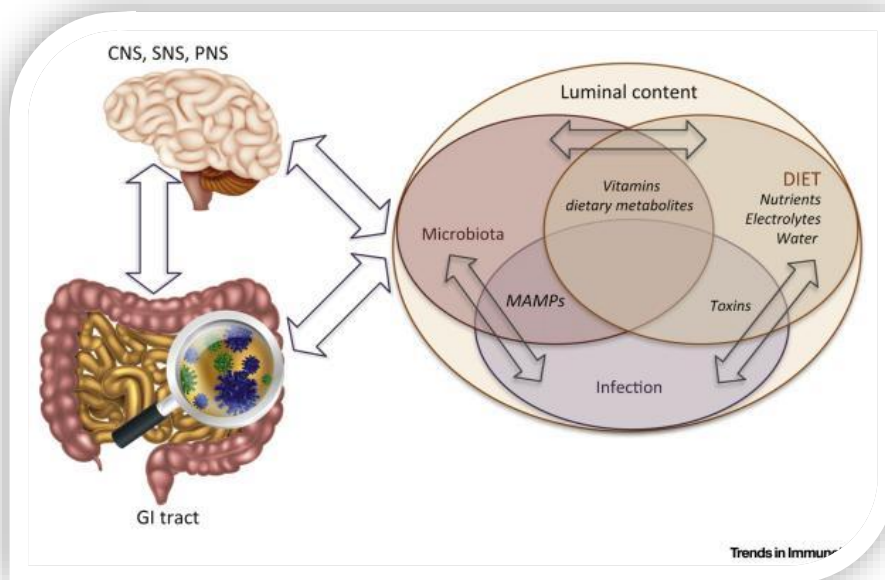
### 3.3 Σεροτονίνη και Μικροχλωρίδα

Ο νευροδιαβιβαστής 5-HT είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες που συμμετέχουν στην ανταλλαγή σημάτων της μικροχλωρίδας με τον εγκέφαλο. Πρόσφατα δεδομένα ανάλυσης δείχνουν πως η 5-HT που προέρχεται από τα ECC αλληλεπιδρά με το εντερικό μικροβίωμα. Η εντερική έκθεση στη 5-HT ρυθμίζει τον αποικισμό και τη φυσιολογία του μικροβιώματος του ξενιστή. Η δράση αυτή μπορεί να εξηγήσει τον αμφίδρομο τρόπο με τον οποίο λειτουργούν ορισμένα φάρμακα με την εντερική μικροχλωρίδα, όπως αυτά των εκλεκτικών αναστολέων επαναπρόσληψης 5-HT. Αυτό σημαίνει πως τα μικρόβια μπορούν να μεταβολίσουν τα χορηγούμενα φάρμακα και αντίστοιχα τα φάρμακα μπορούν να επέμβουν και να τροποποιήσουν τη σύνθεση της μικροχλωρίδας (Cusotto et al., 2019).

Επιπλέον μελέτες έχουν ανακαλύψει πως η μικροχλωρίδα του εντέρου συμμετέχει στην ωρίμανση του ΕΝΣ με τη χρήση των υποδοχέων 5-HT<sub>4</sub>. Η μεταφορά μικροβιώματος σε ποντίκια GF απέφερε την τροποποίηση της νευροανατομίας του ΕΝΣ ενώ αύξησε την εντερική διέλευση. Η φαρμακολογική σηματοδότηση των υποδοχέων 5-HT<sub>4</sub> στους βακτηριακούς αποικισμούς έχει βρεθεί ότι βοηθάει να διατηρήσουν υψηλότερο βαθμό νευρωνικών βλαστικών κυττάρων στο έντερο των ενηλίκων (De Vadder et al., 2018). Εξίσου σημαντική είναι και η δράση των πρόδρομων νευροδιαβιβαστών. Μέσω της τρυπτοφάνης η μικροχλωρίδα μπορεί να επηρεάσει τη σεροτονινεργική νευροδιαβίβαση. Στα αρσενικά ποντίκια GF, γεγονός που την καθιστά εξαρτώμενη από το φύλο, τα επίπεδα τρυπτοφάνης είναι σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Αυτή η παρατήρηση συνεπάγεται με αύξηση της 5-HT στον ιππόκαμπο καθώς και του μεταβολίτη της, του οξικού οξέος 5-υδροξυ-ινδόλης (Clarke et al., 2013b).

## Κεφάλαιο 4. Ανατομία του Άξονα Εντέρου-Εγκεφάλου

Ο άξονας εντέρου-εγκεφάλου δομείται από το ΚΝΣ, το νευροενδοκρινικό και νευροανοσοποιητικό σύστημα, το ΑΝΣ με το συμπαθητικό και παρασυμπαθητικό σκέλος, το ΕΝΣ και την εντερική μικροχλωρίδα η οποία αποτελεί τον πομπό αλλά και τον δέκτη των ερεθισμάτων σε αυτό το πολύπλοκο αντανακλαστικό δίκτυο (O'Mahony et al., 2011). Η GIT αποτελεί το μόνο όργανο του ανθρώπου του οποίου η λειτουργία ελέγχεται, πέρα από την εξωγενή νεύρωση, από δικό του ενδογενές ΕΝΣ.



Εικόνα 10. Η πολυδιάστατη αλληλεπίδραση μεταξύ του εντερικού νευρικού συστήματος και του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Το ΕΝΣ δρα ανεξάρτητα από το ΚΝΣ, ωστόσο υπάρχει μία διάυλος επικοινωνίας και ανταλλαγής πληροφοριών μεταξύ αυτών των δυο συστημάτων. Οι γαστρεντερικές λειτουργίες, όπως η πρόσληψη τροφής και η πέψη, αποτελούν φυσιολογικές διεργασίες που ρυθμίζονται από ένα πλήθος κυττάρων. Τα κύρια είδη είναι αυτά των επιθηλίων, των λείων μυών και του αγγειακού συστήματος, ενώ τα σήματα επικοινωνίας μεταξύ τους μεταβιβάζονται μέσω των ενδογενών νευρώνων εντός του γαστρεντερικού τοιχώματος αλλά και των εξωγενών νευρώνων εκτός του γαστρεντερικού σωλήνα.

Η GIT αποτελεί για τον οργανισμό την πύλη εισόδου για τις τροφές αλλά και για τα παθογόνα μικρόβια και βακτήρια που τον χρησιμοποιούν ως ξενιστή. Σε αυτή

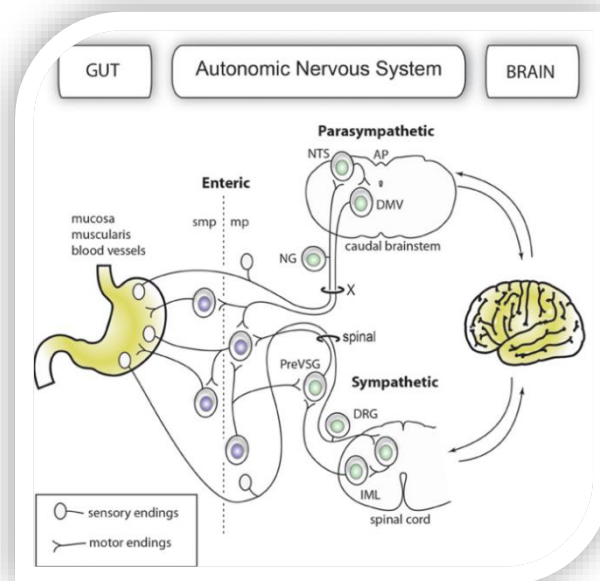
διαμένουν και τα κοινά βακτήρια που συμβιώνουν με τον ξενιστή και αξιοποιούν την τροφή του ως μέσο χορήγησης θρεπτικών ουσιών και βασικών βιταμινών. Το ίδιο, ωστόσο, κάνουν και τα παθογόνα με αποτέλεσμα την εμφάνιση δηλητηριάσεων και λοιμώξεων. Ο έλεγχος του πληθυσμού των παθογόνων γίνεται εν μέρη από τα κοινά βακτήρια που αποικίζουν τον αυλό, βοηθώντας την πέψη και προκαλώντας μία φυσιολογική φλεγμονή. Για την διατήρηση της ομοιόστασης του γαστρεντερικού σωλήνα, το ΕΝΣ επικοινωνεί αμφίδρομα με το ΑΝΣ, ωστόσο οι νευροάνοσες αλληλεπιδράσεις που προκύπτουν μπορούν να έχουν επίδραση και στο ΚΝΣ με το οποίο το έντερο επικοινωνεί εξίσου. Έτσι οι γαστρεντερικές διαταραχές που οδηγούν σε πόνο προκαλούν άγχος, στρες ή ακόμα και κατάθλιψη, ενώ αντιστρόφως, η κακή ψυχολογική διάθεση μπορεί να έχει αρνητικές επιδράσεις στις γαστρεντερικές λειτουργίες (Margolis et al., 2016).

Το τμήμα του ανώτερου γαστρεντερικού σωλήνα λειτουργεί υπό την επίδραση κυρίως του εξωγενούς ΚΝΣ, ενώ το υπόλοιπο κομμάτι του ΕΝΣ του εντέρου λειτουργεί και δρα ανεξάρτητα από τις εξωγενείς επιρροές. Μαζί με τις τροφές και τα παθογόνα μικρόβια που εισέρχονται στον οργανισμό, ο γαστρεντερικός σωλήνας αποτελεί τρόπο εισόδου και για τις τοξίνες που αποκτούν πρόσβαση στο εσωτερικό του σώματος. Το έντερο, λοιπόν, θα πρέπει να είναι προσβάσιμο και διαπερατό για τις θρεπτικές ουσίες αλλά ταυτόχρονα υπεύθυνο για την διαλογή των ουσιών που διέρχονται από την πύλη εισόδου. Για το λόγο αυτό είναι εξοπλισμένο με ένα σύστημα που αναγνωρίζει και εξουδετερώνει δυνητικά επικίνδυνους στόχους (Furness et al., 2013). Σε μία άμεση αντιμετώπιση απειλής προκαλείται εμετός ή διάρροια ως απάντηση, ενώ όταν πρόκειται για μία μικροβιακή εισβολή, η συνεργασία του ΕΝΣ με το ΑΝΣ είναι απαραίτητη για την προστασία του εντέρου.

Σε ένα υγιές έντερο θα πρέπει να υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ των παθογόνων και των συμβιωτικών βακτηρίων. Σε μια τέτοια φυσιολογική εντερική μικροχλωρίδα η παραγωγή νευροδιαβιβαστών και SCFA πραγματοποιείται σε κανονικές ποσότητες ενώ λειτουργικός παραμένει και ο εντερικός φραγμός αλλά και το στρώμα βλέννας του περιβάλλει το έντερο. Στην περίπτωση που η εντερική μικροχλωρίδα διαταραχθεί, προκληθεί δηλαδή εντερική δυσβολία, ο αριθμός και η ποικιλομορφία των μικροβίων διαταράσσεται με αποτέλεσμα να υπερισχύσουν οι παθογόνοι

μικροοργανισμοί με μειωμένη παραγωγή νευροδιαβιβαστών και SCFA, ενώ παράλληλα αυξάνονται τα επίπεδα των λιποπολυσακχαριτών (LPS). Οι LPS και οι κυτοκίνες διαπερνούν τον εντερικό φραγμό και τη στιβάδα βλέννας που επηρεάζονται εξίσου, δημιουργώντας φλεγμονή του εντέρου και εξασθένηση της λειτουργικότητάς του. Η αλυσιδωτή αντίδραση που προκαλείται από την διαταραχή της μικροχλωρίδας έχει συσχετιστεί με ένα πλήθος νευροεκφυλιστικών νόσων και γνωστικών διαταραχών (Gubert et al., 2020).

Το ανθρώπινο έντερο νευρώνεται από περίπου 50.000 εξωγενείς και 100.000.000 εγγενείς αισθητικούς νευρώνες που αλληλοεπιδρούν διαρκώς με τους εκατομμύρια βακτηριακούς αποικισμούς του εντέρου. Φαίνεται πως η οποιαδήποτε εντερική μεταβολή έχει άμεση επίδραση στην επικοινωνία του με τον εγκέφαλο. Τόσο οι εγγενείς πρωτογενείς προσαγωγοί νευρώνες στο εσωτερικό τοίχωμα του εντέρου όσο και το μεγαλύτερης έκτασης VN δείχνουν να ανταποκρίνονται στην εμφάνιση της εντερικής δυσβολίας (Luczynski et al., 2016a).



Εικόνα 11. Απλοποιημένη απεικόνιση του άξονα εντέρου-εγκεφάλου.

Ο άξονας εντέρου-εγκεφάλου πλαισιώνεται από ένα δίκτυο αυτόνομων νευρώνων που φέρνουν σε επαφή το ΚΝΣ με τον οισοφάγο, το ήπαρ, το πάγκρεας και φυσικά με το γαστρεντερικό σωλήνα. Οι νευρώνες αυτοί χρησιμοποιούν ως δίαυλους

επικοινωνίας τα εσωτερικά νεύρα, όπως το πνευμονογαστρικό και το σπλαχνικό προκειμένου να νευρώσουν τα κοιλιακά σπλάχνα. Η λεπτομερής απεικόνιση του άξονα παρέμεινε για αρκετά χρόνια αχαρτογράφητη επειδή τα νεύρα παύουν να είναι διακριτά αμέσως μόλις διεισδύσουν στα όργανα. Αρκετά αργότερα ανακαλύφθηκαν και οι εντερικοί νευρώνες, οι οποίοι μαζί με τους μεταγαγγλιακούς νευρώνες στη χοληδόχο κύστη και το πάγκρεας αποτελούν μέρος τις διακλάδωσης του άξονα εντέρου-εγκεφάλου μεταδίδοντας πληροφορίες στο ΑΝΣ. Παρ' όλη την εξαρτώμενη σχέση των εντερικών νευρώνων από τον άξονα, οι ίδιοι είναι ικανοί να λειτουργήσουν και ανεξάρτητα.

#### 4.1 Επίδραση του Εγκεφάλου στο Έντερο

Οι περισσότερες έρευνες επικεντρώνονται στις επιπτώσεις που έχουν οι μικροβιακές μεταβολές στη λειτουργία του ΚΝΣ και του εγκεφάλου. ίσως όχι άδικα, καθώς από την εντερική μικροχλωρίδα ξεκινάει ένα πλήθος αντιδράσεων που επηρεάζουν την ομοιοστάση ολόκληρου του οργανισμού. Ωστόσο, εξίσου σημαντική είναι η μελέτη της επίδρασης που ασκεί ο εγκέφαλος στο έντερο και της ικανότητάς του να μεταβάλλει τη μικροχλωρίδα. Ένα πλήθος μορίων που απελευθερώνονται στον αυλό του εντέρου από κύτταρα στο έλασμα *proprgia* τα οποία ελέγχει το ΚΝΣ μπορούν να τροποποιήσουν τη γαστρεντερική κινητικότητα αλλά και την εντερική διαπερατότητα.

Η παρατήρηση του οργανισμού απέναντι σε διάφορες στρεσογόνες καταστάσεις έχει αποδείξει την σημασία του εγκεφάλου στη βακτηριακή αποίκιση. Για παράδειγμα, το στρες οδηγεί σε διαπερατότητα του εντέρου επιτρέποντας τη διέλευση των βακτηρίων και των μεταβολικών τους παραγόντων. Η δράση αυτή ενεργοποιεί μία ανοσολογική απόκριση η οποία μεταβάλλει τη μικροβιακή σύνθεση. Οι ορμόνες του στρες έχουν συσχετιστεί με αύξηση του αριθμού μη παθογόνων μικροβίων με αποτέλεσμα τη μετατόπιση της μικροβιακής δομής. Παρατηρείται, λοιπόν, πως ακόμα και από τη βρεφική ηλικία το στρες και διάφοροι ψυχοκοινωνικοί παράγοντες μπορούν μέσα από μία σειρά αντιδράσεων να αποφέρουν αριθμητικές αλλαγές στις βακτηριακές αποικίες και κατ' επέκταση στην ποικιλομορφία της μικροχλωρίδας (Grenham et al., 2011).

## 4.2 Ανοσολογική και Γαστρεντερική Λειτουργία

Η εύρυθμη λειτουργία της ανοσολογικής δράσης του εντερικού βλεννογόνου επηρεάζεται άμεσα από τη μικροχλωρίδα του εντέρου. Οι υποδοχείς τύπου toll (TLRs), διαμεμβρανικές πρωτεΐνες τύπου I που σχετίζονται με την έμφυτη ανοσία, μπορούν και αναγνωρίζουν τα παθογόνα βακτήρια από αυτά των κοινών συμβιωτικών του εντέρου (Akira & Hemmi, 2003). Οι συγκεκριμένοι υποδοχείς είτε είναι μειωμένοι είτε απουσιάζουν πλήρως από τα ποντίκια GF. Επιπλέον, σε αυτά παρατηρείται μειωμένη έκκριση IgA και μορφολογικά μικρότερα και λιγότερα λεμφοειδή θυλάκια στο εντερικό τοίχωμα. Έχει παρατηρηθεί πως η διέγερση σπληνοκυττάρων με πολυσακχαρίτη μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στη νευροδιαβίβαση του ΚΝΣ λόγω διαταραχής της εντερικής μικροχλωρίδας με αποτελέσματα που μπορεί να είναι μη αναστρέψιμα ακόμη και έπειτα από αποκατάσταση της (Clarke et al., 2013c). Οι παρατηρήσεις αυτές μας δείχνουν πως η έκθεση σε βακτήρια είναι απαραίτητη για τη δημιουργία μιας υγιούς μικροχλωρίδας και κατ' επέκταση μιας φυσιολογικής ανοσολογικής απόκρισης.

Πέρα από την σύνθεση της μικροχλωρίδας, τα βακτήρια που αποικίζουν το γαστρεντερικό σωλήνα είναι απαραίτητα για τη σύνθεση ενός λειτουργικού και σωστά δομημένου γαστρεντερικού συστήματος. Στα πειράματα που γίνονται σε ποντίκια GF φαίνεται πως η εντερική τους επιφάνεια μειώνεται ενώ μικρότερα και λιγότερα είναι και τα λεμφοειδή θυλάκια του τοιχώματος. Επιπλέον, στα ζώα αυτά, είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος αλλά μικρότερα σε πληθυσμό τα ECCs. Τα κύτταρα αυτά παράγουν 5-HT έχοντας σημαντικό ρόλο στη γαστρεντερική ρύθμιση, κυρίως στην εντερική κινητικότητα και έκκριση.

Οι συνεχείς νέες πληροφορίες μας δείχνουν ολοένα και πιο συχνά την παρουσία φλεγμονής σε διάφορες ψυχιατρικές διαταραχές, με πιθανή αιτία την ανάμειξη των αντιφλεγμονωδών κυτοκινών. Η συστηματική φλεγμονώδης απόκριση ενεργοποιείται κυρίως από την αυξημένη εντερική διαπερατότητα η οποία προκαλείται από διαταραχές στην εντερική μικροχλωρίδα, αλλοιώσεις στα εντεροκύτταρα και εξασθένιση των στενών συνδέσεων μεταξύ τους, αλλά και από το άγχος. Το σύνδρομο διαρρέοντος εντέρου, όπως είναι κοινά γνωστό, προκαλεί τη μεταφορά των Gram αρνητικών βακτηρίων που περιέχουν LPS ενεργοποιώντας το ανοσοποιητικό σύστημα. Η διαδικασία αυτή αυξάνει τις συγκεντρώσεις των προφλεγμονωδών κυτοκινών με αποτέλεσμα η περίσσεια αυτών

να είναι καταστροφική για τα κύτταρα του ΚΝΣ. Φαίνεται πως η γενικευμένη φλεγμονή του οργανισμού που οφείλεται στα παράγωγα του ανοσοποιητικού συστήματος, τις κυτοκίνες, τις χημειοκίνες και τους φλεγμονώδεις μεσολαβητές, αποτελεί μία πιθανή αιτία για την ανάπτυξη των συναισθηματικών διαταραχών (Góralczyk-Bińkowska et al., 2022).

Ένας ακόμα μηχανισμός στον οποίο εμπλέκονται οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες είναι η συγκέντρωση της 5-HT. Οι κυτοκίνες ενεργοποιούν την οδό κυνουρενίνης στην οποία μεταβολίζεται η τρυπτοφάνη, η πρόδρομη ουσία της 5-HT (Zádor et al., 2021). Όταν η συγκέντρωση των προφλεγμονωδών κυτοκινών βρίσκεται σε περίσσεια ενεργοποιείται η 2,3-διοξυγενάση την ινδολαμίνης ενώ μειώνονται τα επίπεδα 5-HT και τρυπτοφάνης. Το αποτέλεσμα αυτό οδηγεί στην επιδείνωση των συναισθηματικών διαταραχών. Καθώς λοιπόν η τρυπτοφάνη μετατρέπεται σε κυνουρενίνη και όχι 5-HT, η παραγωγή της δεύτερης μειώνεται ακόμη περισσότερο ενώ ταυτόχρονα αυξάνεται η παραγωγή τοξικών μεταβολιτών στο ΚΝΣ καθώς μαζί με την κυνουρενίνη παράγονται κινολινικό οξύ και 3-υδροξυ-κυνουρενίνη. Η διαταραγμένη διαπερατότητα του εντερικού φραγμού επιτρέπει στις θρεπτικές ουσίες των τροφίμων να διέλθουν σχεδόν ανεξέλεγκτα στο έντερο. Αυτά τα αντιγόνα τροφίμων συνδέονται με αντισώματα IgG δημιουργώντας ανοσοσυμπλέγματα. Μέσω της κυκλοφορίας του αίματος, τα ανοσοσυμπλέγματα μετακινούνται προς το ΚΝΣ, προκαλώντας με τη χρόνια συσσώρευσή τους πιθανή δημιουργία φλεγμονής και εμφάνιση χρόνιων παθήσεων (Góralczyk-Bińkowska et al., 2022).

Ένας μεγάλος αριθμός ερευνών καταλήγει στο συμπέρασμα πως η μικροβιακή ποικιλομορφία ευθύνεται ή προάγει την ανάπτυξη παθολογικών καταστάσεων που ξεκινούν από το έντερο και καταλήγουν έως και τον εγκέφαλο. Είναι κοινώς αποδεκτό πως οι εγκεφαλικές λειτουργίες και οι ασθένειες που σχετίζονται με τον εγκέφαλο επηρεάζουν το έντερο. Ωστόσο, θα πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω και να εξακριβωθεί η μεταξύ τους σχέση και με βάση αυτό να στοχεύσουμε την εντερική μικροχλωρίδα για την πρόληψη και τη διάγνωση ασθενειών.

### 4.3 Λειτουργία του Εντερικού Νευρικού Συστήματος

Οι αλλοιώσεις που έχουν σημειωθεί κατά την ανάπτυξη και λειτουργία του ΚΝΣ παρουσιάζουν αντίκτυπο και στο ΕΝΣ, αφού τα κύτταρα που υπάρχουν στο ΕΝΣ αποτελούν το πρώτο νευρικό σημείο επαφής για τα κοινά συμβιωτικά βακτήρια του εντέρου. Η εντερική μικροχλωρίδα είναι απαραίτητο στοιχείο για τη μεταγεννητική ανάπτυξη των εντερικών και κινητικών νευρώνων. Οι μελέτες σε ποντίκια GF έχουν δείξει πως στο λεπτό έντερο υπάρχει μειωμένη πυκνότητα νευρών, με λιγότερα νευρωτικά κυτταρικά σώματα στα μυεντερικά γάγγλια και εξίσου λιγότερες συνδεδεμένες νευρικές ίνες μεταξύ τους. Το αποτέλεσμα, υπό συνθήκες χωρίς μικρόβια, είναι πως οι νευρώνες του εντέρου που αντιλαμβάνονται τα αισθητήρια ερεθίσματα είναι λιγότερο ευερέθιστοι. Η θεραπεία με το προβιοτικό *Lactobacillus Rhamonus* σε αρουραίους έδωσε θετικά αποτελέσματα καθώς οι νευρώνες αυτοί ανταποκρίθηκαν και παρουσίασαν αύξηση της διέγερσής του μετά τη χορήγηση του προβιοτικού.

Μία ακόμα αξιοσημείωτη παρατήρηση σε αρουραίους GF είναι πως μπορούν να μεταβάλουν την εντερική κινητικότητα. Οι αισθητήριοι νευρώνες, που αναφέρθηκαν, συνάπτουν εντερικούς κινητικούς νευρώνες που είναι υπεύθυνοι για την κινητικότητα του εντέρου. Η μεταβολή αυτή θα μπορούσε να μας δώσει μία πιθανή καθοδήγηση για την αντιμετώπιση της δυσλειτουργίας. Πέρα από τους εντερικούς νευρώνες, συνάπτονται ανατομικά και λειτουργικά με απολήξεις του VN, δημιουργώντας έναν άμεσο τρόπο μετάδοσης του σήματος από την εντερική μικροχλωρίδα στον εγκέφαλο. Μέχρι στιγμής όλα τα πειραματικά δεδομένα είναι αποδεδειγμένα σε ζωικά πειραματικά μοντέλα ενώ με την εξέλιξη της γνώσης και της επιστήμης οι μέθοδοι βρίσκουν εφαρμογή και στον άνθρωπο (Luczynski et al., 2016b).

### 4.4 Ανθεκτικότητα στην Εισβολή Νέων Ειδών

Ένα από τα οφέλη της φυσιολογικής μικροχλωρίδας είναι η αντίσταση στον αποικισμό παθογόνων μικροοργανισμών. Τελευταίες μελέτες, ωστόσο, δείχνουν πως αυτή η αμυντική στάση παρουσιάζει πλαστικότητα κατά την εφαρμογή της. Σε δείγματα αρουραίων, η αλληλούχιση και η φυλογενετική ομαδοποίηση των δειγμάτων έπειτα από μεταμόσχευση μικροβίων, έδειξε πως το μικροβίωμα που δέχθηκε το υλικό παρουσίασε αύξηση της μικροβιακής ποικιλομορφίας, η οποία διαμορφώθηκε τόσο από την αποίκιση



νέων φυλοτύπων όσο και από την αύξηση του πληθυσμού των ήδη υπαρχόντων. Όταν στα ποντίκια δέκτες χορηγήθηκαν αντιβιοτικά πριν από την μεταμόσχευση, δεν παρατηρήθηκε αύξηση των εισερχόμενων μικροβίων. Φαίνεται, λοιπόν, πως οι διακυμάνσεις στους μικροβιακούς πληθυσμούς πιθανότατα να εξαρτώνται από την ομοιόσταση του εντέρου που επηρεάζεται από τα αντιβιοτικά και σε δεύτερο βαθμό από την πρωτογενή βακτηριακή απώλεια (Manichanh et al., 2010).

#### 4.5 Λειτουργική Δράση της Μικροχλωρίδας

Οι περισσότερες πληροφορίες που γνωρίζουμε σχετικά με τη δράση της μικροχλωρίδας προέρχονται από ανατροφή ποντικών GF. Είναι γνωστό πως για τη σωστή λειτουργία και κινητικότητα του εντέρου, αλλά και τη δράση του εντερικού φραγμού, είναι απαραίτητη η μικροχλωρίδα. Έχει παρατηρηθεί πως ο ρυθμός λειτουργίας των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων σε ζώα GF είναι πολύ πιο αργός σε αντίθεση με τα συμβατικά πειραματόζωα. Σε πιο πρόσφατες μελέτες έχει αποδειχθεί πως η αναγνώριση των κοινών συμβιωτικών βακτηρίων από τους υποδοχείς TLRs παίζει σημαντικό ρόλο στην εντερική επιθηλιακή ομοιόσταση, καθώς ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων μειώνοντας το χρόνο ανάπλασης της επιθηλιακής επιφάνειας έπειτα από τραυματισμό (Rakoff-Nahoum et al., 2004).

Επιπλέον έρευνες χρησιμοποιώντας GF μας δείχνουν πως η μικροχλωρίδα είναι σημαντική για την ανάπτυξη του λεμφικού ιστού που συνδέεται με το έντερο. Η σχέση αυτή διαμορφώνει το ανοσοποιητικό σύστημα του γαστρεντερικού σωλήνα εκκρίνοντας IgA και ελέγχοντας τη φλεγμονή που μπορεί να προκληθεί από τα βακτήρια. Το ανοσοποιητικό σύστημα του βλεννογόνου ρυθμίζεται κατά κανόνα από την έμφυτη ανοσία του οργανισμού και έχει την ικανότητα να διακρίνει τα δυνητικά παθογόνα μικρόβια από τα αβλαβή αντιγόνα με τη βοήθεια των υποδοχέων αναγνώρισης προτύπων (PRR). Σε αυτή τη διαδικασία εμπλέκονται και οι TLRs, οι οποίοι αναγνωρίζουν χαρακτηριστικά μόρια των παθογόνων μικροοργανισμών, τα μοριακά πρότυπα. Όταν ένας υποδοχέας TLR ανιχνεύσει ένα παθογόνο ξεκινάει μια σειρά αντιδράσεων ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος η οποία καταλήγει στην αύξηση των επιπέδων των κυτοκινών και στην ενεργοποίηση των T-κυττάρων. Στην περίπτωση που η εντερική μικροχλωρίδα παρουσιάζει δυσβολία, τότε οι υποδοχείς TLRs έχουν χαμηλά ή

ανύπαρκτα επίπεδα έκφρασης, με αποτέλεσμα οι ανοσολογικές απαντήσεις του οργανισμού έναντι των παθογόνων να υπολειτουργούν (Grenham et al., 2011).

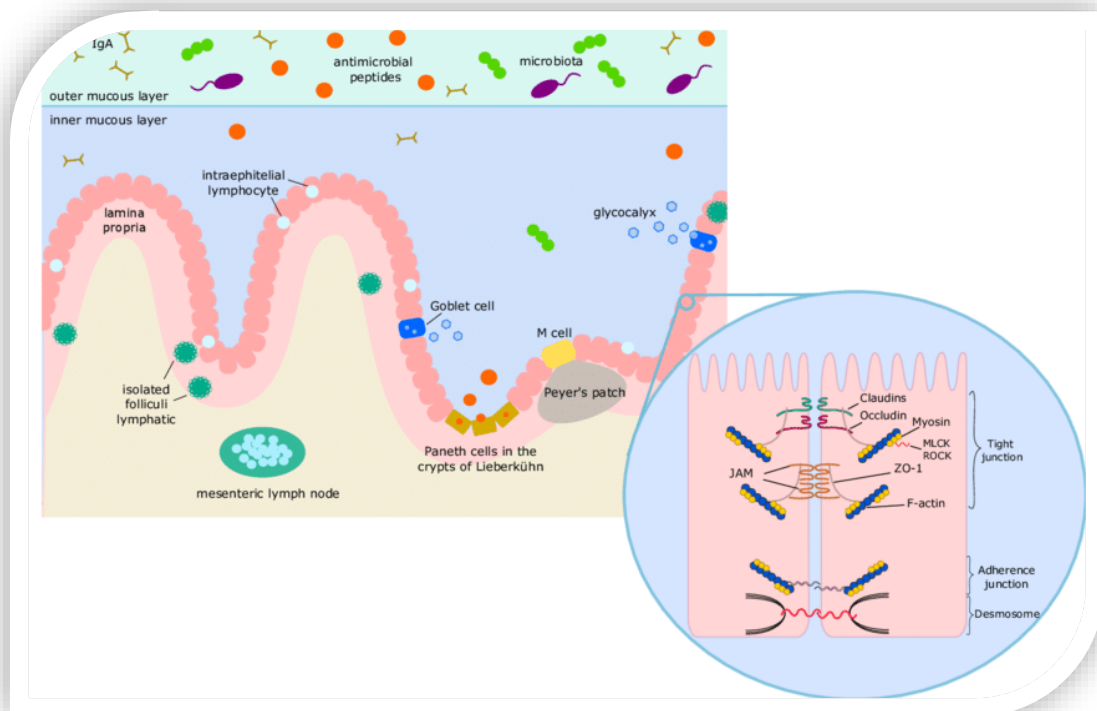
Η εντερική μικροχλωρίδα λόγω της θέσης της δεν θα μπορούσε να μην συμμετέχει στους μηχανισμούς πέψης και μεταβολισμού της τροφής, με σκοπό να αυξήσει την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών. Αυτό επιτυγχάνεται είτε με τον μεταβολισμό ολιγοσακχαριτών τους οποίους δεν μπορεί να αξιοποιήσει ο οργανισμός, είτε με τη ρύθμιση της απορρόφησης (Sekirov et al., 2010). Ο μεταβολισμός των διαιτητικών ινών σε SCFA από τα βακτήρια αποτελεί ένα σημαντικό μέσο παροχής ενέργειας. Η σύνδεση των SCFA με συγκεκριμένους υποδοχείς G αυξάνει την κυκλοφορία μιας εντεροενδοκρινικής ορμόνης (PPY), η οποία μειώνει την κινητικότητα του εντέρου, αυξάνοντας την απορροφητική του ικανότητα (Samuel et al., 2008).

#### 4.6 Εντερικός Φραγμός

Οι σύγχρονες μέθοδοι μελέτης της βιολογίας έχουν δείξει πως σε περιπτώσεις γαστρεντερικών διαταραχών υπάρχουν εμφανείς δομικές και λειτουργικές αλλοιώσεις του εντερικού επιθηλιακού φραγμού, ενώ το ανοσοποιητικό σύστημα υφίσταται μία ήπια ενεργοποίηση. Ο τρόπος με τον οποίο συμπεριφέρεται η γαστρεντερική μικροχλωρίδα μας κάνει γνωστό πως η διαπερατότητα του εντέρου δημιουργεί μια οδό, ένα πέρασμα, την οποία χρησιμοποιούν οι βακτηριακές αποικίες ώστε να μεταφερθούν οι ίδιες και οι μεταβολίτες τους από τον αυλό στο ΕΝΣ, στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και στη συστηματική κυκλοφορία. Οι μεταβολές αυτές είναι χαρακτηριστικά ενός χαμηλού βαθμού φλεγμονής στο IBS (Hillestad et al., 2022).

Υπό φυσιολογικές συνθήκες και απουσία δυσβολίας στην εντερική μικροχλωρίδα, ο εντερικός φραγμός αποτελείται από μία μονοστιβάδα πολωμένων επιθηλιακών κυττάρων που καλύπτονται από ένα στρώμα βλέννας (D. Zheng et al., 2020a). Η βλέννα μπορεί και παγιδεύει τα παθογόνα βακτήρια ενώ η αποίκιση της από τα συμβιωτικά μικρόβια, όπως τα Firmicutes, Lactobacillus και Bacteroides, συμβάλει και αυτή στην πρόληψη από την εγκατάσταση παθογόνων για τον οργανισμό μικροβίων μέσω των προϊόντων που παράγουν, όπως τα IgA (Ringel & Maharshak, 2013).

Από τη μικροχλωρίδα μπορεί επίσης να παραχθούν πρωτεάσες και αναστολείς πρωτεασών οι οποίες ρυθμίζουν την ανοσολογική απόκριση. Στην περίπτωση του IBS, οι πρωτεάσες που παράγονται από μια διαταραγμένη μικροχλωρίδα φαίνεται να σχετίζονται με δυσλειτουργία του εντερικού φραγμού, με ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος και με παρουσία συμπτωμάτων εξαιτίας της ενεργοποίησης των υποδοχέων από την πρωτεάση (PARs) (Maharshak et al., 2015). Στο IBS, και ιδιαίτερα στο μεταλοιμώδες σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, έχουν παρατηρηθεί υψηλά επίπεδα πρωτεολυτικής δραστηριότητας κοπράνων. Αυτό δείχνει να οφείλεται σε αλλαγές της μικροβιακής ποικιλομορφίας, δηλαδή στην ύπαρξη συγκεκριμένων ειδών που προάγουν την αυξημένη παραγωγή ή την ανεπαρκή καταστολή των πρωτεασών και τη μετέπειτα ενεργοποίηση των PARs. Οι μεταβολές αυτές μπορούν να οδηγήσουν στη δυσλειτουργία του εντερικού φραγμού.



Εικόνα 12. Η δομή του εντερικού φραγμού.

Όταν η διαπερατότητα του εντερικού φραγμού είναι φυσιολογική, τα επιθηλιακά κύτταρα είναι στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους και ο ενδιάμεσος χώρος καλύπτεται από ένα πολύπλοκο δίκτυο πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Χαρακτηριστικές πρωτεΐνες στενής σύνδεσης είναι το Occludin, το Zonula occludens-1 και το Claudin-1.

Στο IBS τα επίπεδα αυτών των πρωτεϊνών μειώνονται στο δωδεκαδάχτυλο, το παχύ έντερο και τη νήστιδα (Hillestad et al., 2022). Η μικροχλωρίδα του εντέρου είναι υπεύθυνη για τη ρύθμιση της έκφρασης των πρωτεϊνών στενής σύνδεσης ενώ σημαντική είναι και η δράση της στο επιθήλιο του εντέρου, ενισχύοντας τον εντερικό φραγμό και μειώνοντας τη φλεγμονή με σκοπό να ιανθούν ασθένειες του εντέρου (Singh et al., 2019). Σε μία έρευνα για το IBS, η ανάλυση των δεδομένων που λήφθηκαν από βιοψίες παχέος εντέρου έδειξαν πως οι ιστοί του επιθηλίου των ασθενών είχαν αυξημένη μετακίνηση κοινών και παθογόνων βακτηριακών πληθυσμών σε σύγκριση με τα υγιή δείγματα. Η παρατήρηση αυτή μας δείχνει πως υπάρχει ενισχυμένη βακτηριακή διέλευση παρακάμπτοντας τον εντερικό φραγμό (Bednarska et al., 2017).

Στο έλασμα *proprgia*, ένα από τα τρία στρώματα του εντερικού βλεννογόνου, τα μαστοκύτταρα αποτελούν το 2 – 3% των ανοσοκυττάρων. Η αύξηση της συγκέντρωσής τους ή η ενεργοποίησή τους είναι από τα πιο κοινά παθολογικά χαρακτηριστικά στο IBS. Το έλασμα *proprgia* αποτελεί ένα στρώμα συνδετικού ιστού που διαχωρίζει το στρώμα των επιθηλιακών κυττάρων από αυτό του λείου μυϊκού ιστού. Πέρα από τη συγκράτηση των επιθηλιακών κυττάρων, το έλασμα χρησιμεύει ως ένα φυσικό φράγμα φιλτράροντας και εμποδίζοντας ανεπιθύμητες ουσίες και μικροοργανισμούς να διέλθουν από το έντερο στο υπόλοιπο σώμα. Τα μαστοκύτταρα κατά την ενεργοποίησή τους απελευθερώνουν μεσολαβητές όπως είναι η σεροτονίνη, η ισταμίνη, οι πρωτεάσες και οι προσταγλανδίνες ενώ ακόμα εκκρίνουν κυτοκίνες και χημειοκίνες. Τα μαστοκύτταρα δείχνουν να συμμετέχουν και αυτά στη λειτουργία του άξονα εντέρου-εγκεφάλου καθώς αλληλοεπιδρούν με τη φυσιολογική μικροχλωρίδα αλλά και με το νευρικό σύστημα. Η ενεργοποίηση των εντερικών νευρώνων γίνεται μέσω της 5-HT ενώ επηρεάζονται και από νευροδιαβιβαστές όπως η νοραδρεναλίνη (Zuani et al., 2018).

Οι αυξομειώσεις στα επίπεδα των κυτοκινών μπορούν να αποτελέσουν έναν πιθανό δείκτη φλεγμονής χαμηλού βαθμού στο IBS. Υπάρχουν αρκετές μελέτες οι οποίες υποστηρίζουν πως σε περίπτωση ασθένειας τα επίπεδα της αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-10 είναι μειωμένα ή αντίθετα αυξημένα είναι τα επίπεδα των κυκλοφορούντων προφλεγμονοδών κυτοκινών όπως IL-6, IL-17, IL-8 και TNF- $\alpha$  (Bashashati et al., 2017). Ωστόσο σε άλλες έρευνες τα επίπεδα των κυτοκινών σε ασθενείς που νοσούσαν δεν έδειξαν σημαντική διαφορά από αυτή των υγιών ατόμων,

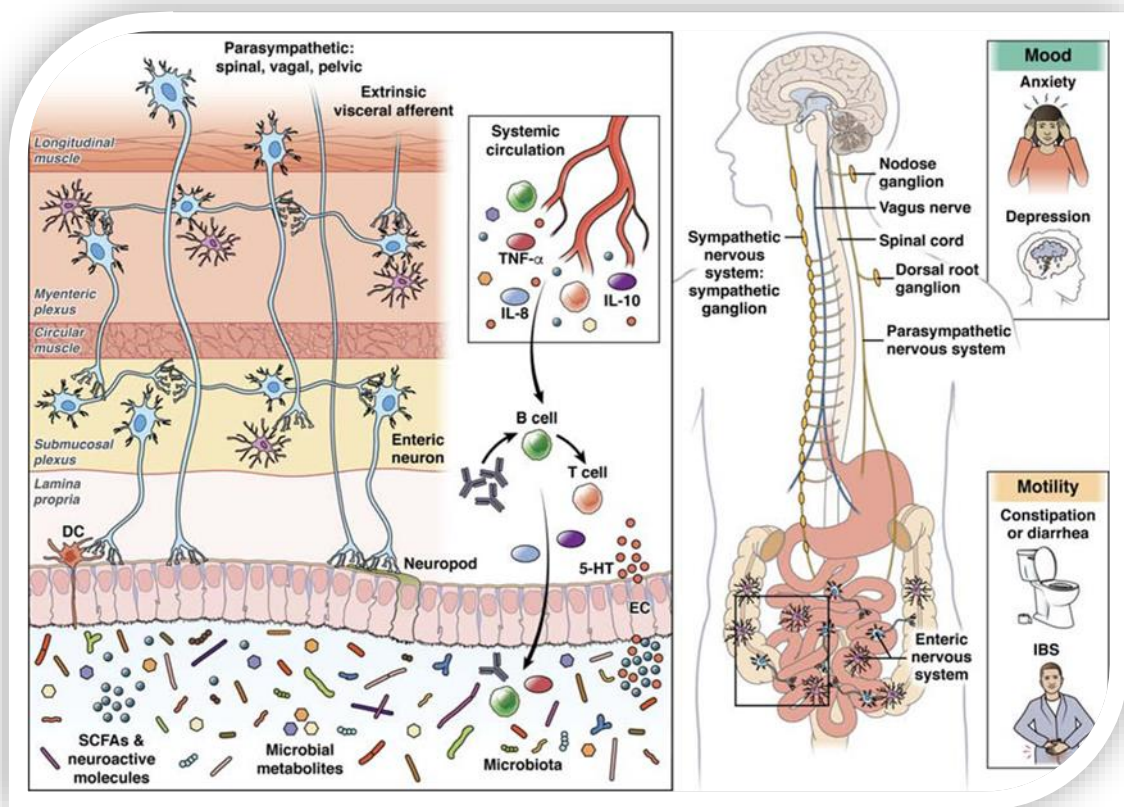
παρόλο που τα προφίλ των κυτοκινών ήταν πιο ποικίλα μεταξύ των δειγμάτων αυτών (Bennet et al., 2016).

Ως ένα ακόμη εύρημα που αξίζει να μελετηθεί περαιτέρω στο IBS είναι η αυξημένη έκφραση των υποδοχέων TLRs. Οι υποδοχείς TLRs μεταξύ άλλων ανιχνεύονται τόσο στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα όσο και στα κύτταρα του ανοσοποιητικού. Οι στενοί σύνδεσμοι που δημιουργούν με τους νευρικούς και τους ανοσοποιητικούς υποδοχείς ορίζουν έναν πιθανό μηχανισμό για τη ρύθμιση της ομοιόστασης στον εντερικό βλεννογόνο (Assas et al., 2014). Οι TLRs μπορούν και αναγνωρίζουν ορισμένα συστατικά των μικροβιακών αποικιών, συμβιωτικών και παθογόνων, ελέγχοντας με τον τρόπο αυτό την ανοσοποιητική άμυνα απέναντι στους παθογόνους μικροοργανισμούς, παραβλέποντας τους συμβιωτικούς που δεν βλάπτουν την υγεία του ξενιστή. Η ιδιαιτερότητα αυτή καθιστά τους TLRs πιθανούς θεραπευτικούς στόχους (de Kivit et al., 2014).

Φαίνεται, λοιπόν, πως η δυσβολία της εντερικής μικροχλωρίδας επηρεάζει άμεσα τον εντερικό φραγμό. Η παράκαμψη αυτού του φυσικού φράγματος προκαλεί την ανεξέλεγκτη εισβολή των μικροβίων από το έντερο στα υπόλοιπα τμήματα του οργανισμού προκαλώντας ένα πλήθος ασθενειών. Η μελέτη των κυττάρων και των υποδοχέων που βοηθούν και υποστηρίζουν αυτόν τον φραγμό μπορούν στο μέλλον να μας υποδείξουν τον τρόπο ώστε να θεραπεύσουμε τις προκαλούμενες παθήσεις.

## Κεφάλαιο 5. Επικοινωνία Εντέρου-Εγκεφάλου

Η μικροχλωρίδα του εντέρου αποτελεί έναν από τους κύριους μηχανισμούς επικοινωνίας του εξωγενούς περιβάλλοντος με τις βιολογικές λειτουργίες του οργανισμού. Σε έναν πολυκύτταρο οργανισμό η διατήρηση της ομοιόστασης του και η προσαρμογή του στις εξωτερικές συνθήκες του περιβάλλοντος ρυθμίζονται από την παραγωγή πολλαπλών σημάτων μεταξύ των διαφορετικών ιστών, όπως είναι οι ορμόνες και οι κυτοκίνες. Επιπλέον, το ΚΝΣ μέσω νευροορμονών σε τοπικό επίπεδο αλλά και με τη νεύρωση των ιστών-στόχων σε πιο απομακρυσμένες περιοχές συντονίζει και ελέγχει το μεταβολισμό ολόκληρου του οργανισμού (Castillo-Armengol et al., 2019).

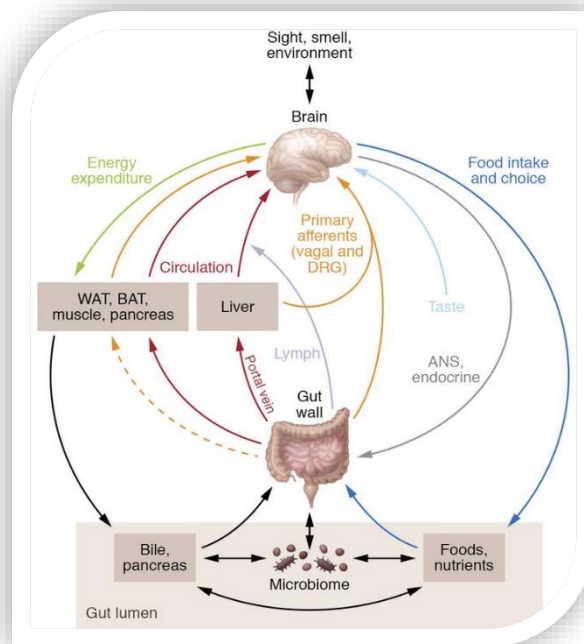


Εικόνα 13. Άμεσες και έμμεσες οδοί επικοινωνίας που ρυθμίζουν τον άξονα εντέρου-εγκεφάλου.

Τα μικρόβια του εντέρου μπορούν να επικοινωνήσουν με τον εγκέφαλο και να ρυθμίσουν τον άξονα εντέρου-εγκεφάλου μέσω άμεσων και έμμεσων οδών. Οι οδοί που χρησιμοποιούνται είναι ανοσολογικές (κυτοκίνες), ενδοκρινικές (κορτιζόλη) και νευρικές (ΕΝΣ, VN και νωτιαία νεύρα). Επίσης, αρκετά από τα κοινά μικρόβια του εντέρου συνθέτουν νευροδιαβιβαστές. Οι νευροδιαβιβαστές, γ-αμινοβουτυρικό, νοραδρεναλίνη,

σεροτονίνη, ακετυλοχολίνη και ντοπαμίνη, δρουν στα κύτταρα-στόχους λειτουργώντας ως ένας δίαυλος επικοινωνίας. Η δράση των μικροβίων στοχεύει στα επιθηλιακά κύτταρα ώστε να επηρεαστεί ο φραγμός του εντέρου, οδηγεί τα EECs στην παραγωγή ορμονών GI και ενισχύει την ανοσολογική απάντηση μέσω των δενδριτικών κυττάρων (DC). Τα κύτταρα EECs και DCs μέσω συνάψεων, όπως του VN, μεταφέρουν τα σήματα του εντέρου προς τον εγκέφαλο (Lyte, 2011; Margolis et al., 2021b; Sarkar et al., 2016).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η σύνδεση του εντέρου με τον εγκέφαλο είναι αμφίδρομη και στενά συνδεδεμένη. Η δράση τους επηρεάζει σημαντικά τόσο την γαστρεντερική λειτουργία όσο και τη λήψη αποφάσεων που λαμβάνονται κάτω από ορισμένες συναισθηματικές καταστάσεις. Οι τρόποι με τους οποίους μεταδίδονται αυτές οι πληροφορίες περιλαμβάνουν νευρικές και χυμικές οδούς, καθώς και άμεσους και έμμεσους τρόπους δράσης.



Εικόνα 14. Διάγραμμα των οδών επικοινωνίας εντέρου-εγκεφάλου.

Το VN αποτελεί τον πιο γρήγορο και άμεσο τρόπο επικοινωνίας σε αυτήν την αμοιβαία σχέση. Γρήγορη μετάδοση σήματος επιτυγχάνεται και μέσω του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και των προσαγωγών της σπονδυλικής στήλης της ραχιαίας ρίζας. Η νεύρωση του γαστρεντερικού σωλήνα και ορισμένων σχετικών αδένων όπως το πάγκρεας, το ήπαρ και η χοληδόχος κύστη αλλά και ανοσοποιητικών οργάνων όπως οι



λεμφαδένες, ο λεμφικός ιστός και ο σπλήνας γίνεται από τους νωτιαίους πρωτογενείς προσαγωγούς νευρώνες. Με λίγο πιο αργό ρυθμό γίνεται η επικοινωνία μέσω των χυμικών παραγόντων που εκκρίνονται από το έντερο και των ορμονών που εκκρίνονται από την υπόφυση του εγκεφάλου (Berthoud et al., 2021).

### 5.1 Πνευμονογαστρικό Νεύρο

Το VN αποτελεί το βασικό στοιχείο του παρασυμπαθητικού νευρικού συστήματος. Είναι ένα μικτό νεύρο με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες που δομείται από 80% προσαγωγές και 20% απαγωγές ίνες. Έχει χαρακτηριστεί ως η έκτη αίσθηση (Zagon, 2001) καθώς μεσολαβεί στην ενδοαντιληπτική επίγνωση (Strigo & Craig, 2016). Οι προσαγωγοί του VN ανιχνεύουν τα μεταβολικά προϊόντα της μικροχλωρίδας και μεταφέρουν τις πληροφορίες που λαμβάνουν στο ΚΝΣ προκαλώντας την απόκριση του στο ερέθισμα. Το στρες, για παράδειγμα, αναστέλλει το VN προκαλώντας διαταραχές στη μικροχλωρίδα και στην ευρύτερη λειτουργία του γαστρεντερικού σωλήνα. Οι διαταραχές αυτές χαρακτηρίζουν τη δυσβολία του εντέρου και οδηγούν σε βιοψυχοκοινωνικές ασθένειες όπως το IBS και το IBD (Bonaz et al., 2018). Το VN αναγνωρισμένο για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές του (Borovikova et al., 2000) αλλά και για τη συμβολή του στη θεραπεία από την κατάθλιψη και την επιληψία (Ben-Menachem, 2001) βρίσκεται στο επίκεντρο της μελέτης του άξονα εντέρου-εγκεφάλου.

Αν και οι πνευμονογαστρικές προσαγωγές ίνες διέρχονται από όλα τα επίπεδα του πεπτικού τοιχώματος, ωστόσο δεν ξεπερνούν την επιθηλιακή στοιβάδα και ως εκ τούτου δεν έρχονται σε άμεση επαφή με την εντερική μικροχλωρίδα (F.-B. Wang & Rowley, 2007). Συμπεραίνουμε, λοιπόν, πως οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ενδοκρινικών κυττάρων του εντέρου και των ινών του VN συμβαίνουν με έμμεσο τρόπο. Τα σήματα των εντερικών μικροβίων διαχέονται της επιθηλιακής στοιβάδας μέσω των βακτηριακών ενώσεων/μεταβολιτών ή με τη βοήθεια άλλων κυττάρων που είναι εγκατεστημένα στο επιθήλιο (Raybould, 2010). Τα EECs, για παράδειγμα, έρχονται σε επαφή με τους προσαγωγούς του VN είτε άμεσα απελευθερώνοντας 5-HT και ενεργοποιώντας τους υποδοχείς 5-HT<sub>3</sub> που φέρουν οι προσαγωγές ίνες του VN (Li et al., 2000), είτε έμμεσα με τη βοήθεια εντερικών ορμονών, όπως είναι η CCK (Strader & Woods, 2005).



Οι EECs λαμβάνουν τα σήματα της μικροχλωρίδας με την βοήθεια των υποδοχέων TLR. Οι υποδοχείς αυτοί μπορούν και αναγνωρίζουν βακτηριακά προϊόντα όπως είναι οι LPS και εκφράζονται είτε από EECs είτε από SCFAs. Με τον τρόπο αυτό τα EECs αποτελούν τους βασικούς ανιχνευτές των μεταβολικών διεργασιών και των βακτηριακών προϊόντων στο γαστρεντερικό σωλήνα ρυθμίζοντας την κινητικότητα του γαστρεντερικού συστήματος, την πρόσληψη τροφής και την έκκριση. Οι λειτουργίες αυτές επιτυγχάνονται χάρις στην έμμεση επίδραση των EECs στις προσαγωγές ίνες του VN (Bonaz et al., 2018b). Αντίθετα, τα SCFAs που προέρχονται από τη μικροχλωρίδα ενεργοποιούν άμεσα τις προσαγωγές ίνες του VN δρώντας ανάλογα με την ένωση που πρόκειται να σχηματιστεί (G. Levy et al., 2013). Επίσης, στις πνευμονογαστρικές προσαγωγές ίνες εκφράζεται και το TLR4. Στις περιπτώσεις αυτές οι ίνες μπορούν να ανιχνεύσουν βακτηριακά προϊόντα και να ενεργοποιήσουν τον εγκέφαλο (Bonaz et al., 2018b).

Το εντερικό μικροβίωμα έχει άμεσες επιδράσεις και στο τοπικό ΕΝΣ. Φαίνεται πως η διαταραχή της μικροχλωρίδας ανάλογα με τον τρόπο επέμβασης σε αυτήν απαιτεί διαφορετικούς χρόνους ώστε να μεταδοθεί και να επηρεάσει τον εγκέφαλο και την συμπεριφορά. Για παράδειγμα, μία οξεία χορήγηση παθογόνων μικροοργανισμών μπορεί να προκαλέσει εγκεφαλικές βλάβες και αλλοιωμένη συμπεριφορά σε διάστημα λίγων ωρών, σε αντίθεση με τα προβιοτικά *L. Reuteri* και *L. Rhamnosus* που τα συμπτώματά τους ανιχνεύονται έπειτα από εβδομάδες (Perez-Burgos et al., 2013). Οι αναφορές αυτές μας δείχνουν πως οι βακτηριακές μεταβολές είτε προκαλούν νευρολογικές αλλαγές ενεργοποιώντας κατευθείαν το VN, είτε επιδρούν με αργό ρυθμό μεταβάλλοντας τις ιδιότητες σηματοδότησης του VN και των συνδεόμενων με αυτό δικτύων, είτε συμβαίνουν και τα δύο.

Η συμβολή και ο ρόλος του VN στη μεταφορά πληροφοριών από τα μικρόβια του εντέρου προς τον εγκέφαλο και το ανάποδο έχει πλέον αναγνωριστεί και καθιερωθεί στην έρευνα. Μειωμένη πνευμονογαστρική λειτουργία συσχετίζεται άμεσα με γαστρεντερικές διαταραχές. Η σύνδεση αυτή καθιστά το VN ένα πιθανό βιοδείκτη του άξονα εντέρου-εγκεφάλου για την παθοφυσιολογία ασθενειών, όπως του IBD και IBS. Η στόχευση στη σωστή και εύρυθμη λειτουργία του VN θα μπορούσε να οδηγήσει στην αποκατάσταση βλαβών και στη διατήρηση της ομοιόστασης του άξονα (Bonaz et al., 2018b).

Πλέον, ο ρόλος του VN αποτελεί σημαντικό και αναπόσπαστο κομμάτι στην επικοινωνία του άξονα εντέρου-εγκεφάλου. Η μείωση του πνευμονογαστρικού τόνου συνεπάγεται με γαστρεντερικές παθήσεις και συμπτώματα, όπως η διάρροια και η εντερική διαπερατότητα. Το VN μελετάται ώστε να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για τη θεραπεία των ασθενειών. Η παρακολούθηση και η στόχευση του νεύρου σε συνδυασμό με άλλες επεμβάσεις, όπως προβιοτικά και μεταμόσχευση κοπράνων, θα μπορούσε να επαναφέρει την ομοιόσταση στον άξονα εντέρου-εγκεφάλου (Bonaz et al., 2018c).

## 5.2 Άξονας Υποθαλάμου-Υπόφυσης-Επινεφριδίων

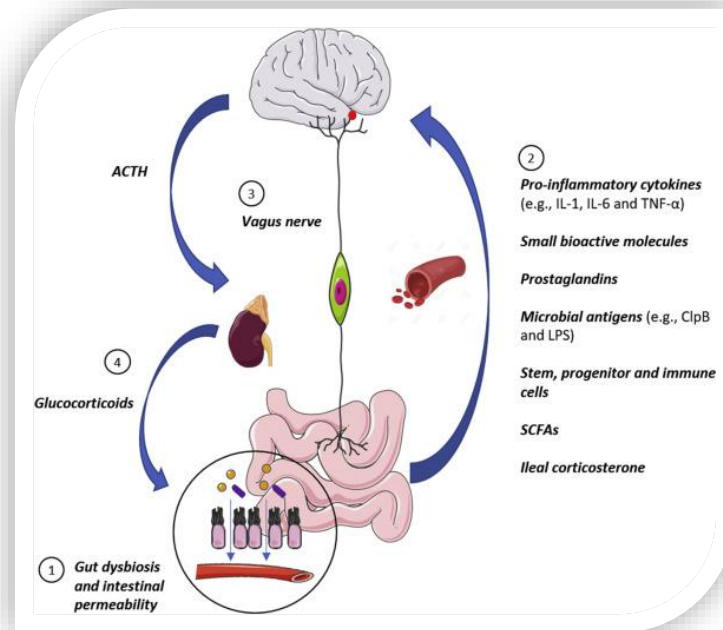
Ο άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA) είναι ένας ενδοκρινικός ρυθμιστής του άξονα εντέρου-εγκεφάλου. Αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή στην αντίδραση του οργανισμού απέναντι σε σωματικά και ψυχολογικά στρεσογόνα ερεθίσματα. Σε ασθενείς με κατάθλιψη ή σχιζοφρένεια έχει παρατηρηθεί πως υπάρχει δυσλειτουργία στον άξονα HPA, ενώ φαίνεται πως τα τραυματικά γεγονότα της παιδικής ηλικίας, βασισμένα στις διαταραχές του άξονα HPA, προκαλούν ψυχικές ασθένειες στην ενήλικη ζωή.

Στη δυσλειτουργία του άξονα παίζει σημαντικό ρόλο το στρες. Η βάση για την ομοιόσταση του εξαρτάται κυρίως από την κορτιζόλη. Η κορτιζόλη παράγεται από τον οργανισμό ως αμυντικός μηχανισμός στο άγχος μειώνοντας τη φλεγμονώδη απόκριση, διεγείροντας τη γλυκογένεση και προστατεύοντας τον οργανισμό από την υπερβολική ανοσολογική απόκριση (Orbell et al., 2013). Τα αυξημένα επίπεδα κορτιζόλης μπορούν να οδηγήσουν σε εξασθένηση της γνωστικής λειτουργίας, καθώς έχει αποδειχθεί συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο, ενώ η παρατεταμένη έκθεση στους στρεσογόνους παράγοντες μπορεί να αποφέρει μη αναστρέψιμες αλλοιώσεις στο νευρωτικό σύστημα του οργανισμού.

Η δράση του άξονα HPA παίζει σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση του οργανισμού. Ο έλεγχος της λειτουργίας του γίνεται με δύο τρόπους, τον ανοσολογικό και το νευρικό. Η ανοσολογική ρύθμιση γίνεται κυρίως μέσω των μεταβολών στα επίπεδα των κυτοκινών, ενώ η νευρική ρύθμιση γίνεται με τη μετάδοση ερεθισμάτων στο ANΣ, κυρίως μέσω του VN και του ΕΝΣ.

### 5.2.1 Εντερική Μικροχλωρίδα και Άξονας HPA

Στα πρώτα χρόνια της ζωής ενός ατόμου τόσο η εντερική μικροχλωρίδα όσο και ο άξονας HPA παρουσιάζουν ταχεία στάδια ανάπτυξης. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες είναι ικανοί να επέμβουν και να επηρεάσουν τη δημιουργία και την εξέλιξη των δύο συστημάτων. Αυτές οι διαταραχές μπορούν να οδηγήσουν σε μεταγενέστερες αλλοιώσεις εκδηλώνοντάς τες με προβλήματα συμπεριφοράς, ψυχοπαθολογικές παθήσεις κ.α. (de Weerth, 2017).



Εικόνα 15. Μηχανισμοί σύνδεσης της εντερικής μικροχλωρίδας και του άξονα HPA.

Η επίδραση της εντερικής μικροχλωρίδας στον άξονα HPA έχει αποδοθεί με διάφορους τρόπους καθώς όλο και περισσότερα ευρήματα έρχονται στο φως μέσα από τις μελέτες και τις ανασκοπήσεις. Η δυσβολία της μικροχλωρίδας προάγει την απελευθέρωση κυτοκινών, όπως της IL-6 και διάφορων βιοδραστικών μορίων. Οι ουσίες αυτές μπορούν μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού να περάσουν και να ενεργοποιήσουν τον άξονα HPA. Επιπλέον, η ενεργοποίηση μπορεί να πραγματοποιηθεί εξαιτίας της απελευθέρωσης LPSs, οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα να διασχίσουν τον εντερικό φραγμό, ή της πεπτιδογλυκάνης, της ουσίας που δομεί τα κυτταρικά τοιχώματα των περισσότερων βακτηρίων.

Ένας ακόμη παράγοντας που εμπλέκεται στη ρύθμιση του άξονα είναι τα SCFA. Τα οξέα από τα οποία αντιπροσωπεύεται αυτή η κατηγορία κυττάρων σταθεροποιούν

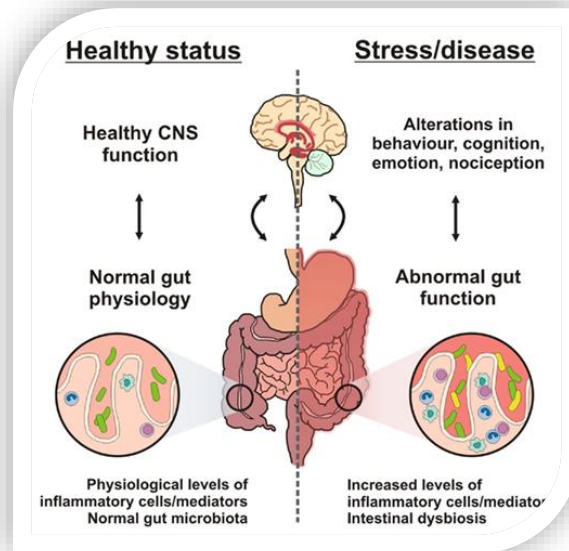
την εντερική ακεραιότητα και συμμετέχουν στη ρύθμιση των ανοσοφλεγμονωδών διεργασιών. Τα SCFA μπορούν επίσης να διασχίσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να μειώσουν τη δραστηριότητα των μικρογλοίων, ελέγχοντας τις τοπικές φλεγμονές. Ωστόσο, η πιο άμεση τους επίδραση βρίσκεται στο γεγονός ότι μπορούν να μειώσουν την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες οι οποίες ασκούν επίδραση στον άξονα HPA. Τέλος, αποτελεί πολύ σημαντικό παράγοντα ρύθμισης και η αλληλεπίδραση του ξενιστή με τα μικρόβια. Τα μικρόβια μπορούν να επηρεάσουν τα βλαστικά κύτταρα επεμβαίνοντας στη διαφοροποίηση, στην αυτοανανέωση και στο αναγεννητικό δυναμικό τους στο ΕΝΣ και ΚΝΣ (Misiak et al., 2020).

Αντιστρόφως, η υπερδραστηριότητα του άξονα HPA επηρεάζει τη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου μέσω της ενεργοποίησης των νευροενδοκρινικών ορμονών, αποδεικνύοντας ότι και εδώ μιλάμε για μία αμφίδρομη επικοινωνία. Οι λειτουργικές διαταραχές του άξονα κατά την ανάπτυξη του εγκεφάλου μπορούν να επηρεάσουν τη βακτηριακή ποικιλομορφία και τη σπλαχνική ευαισθησία. Στην περίπτωση του IBS, η κορτιζόλη ενεργοποιεί τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς και τους εξωγενείς πρωτογενείς προσαγωγούς στο γαστρεντερικό σωλήνα. Σε ζωικά μοντέλα, επίσης, έχει φανεί πως η λειτουργία του άξονα HPA, υπό στρεσογόνες καταστάσεις, μπορεί να αυξήσει την εντερική διαπερατότητα με τις αντίστοιχες επιπτώσεις. Η παρατήρηση αυτή δείχνει να έχει ισχύ και στους ανθρώπους (Misiak et al., 2020).

### 5.3 Επικοινωνία Εντέρου-Εγκεφάλου στις Ασθένειες

Η δράση της μικροχλωρίδας στις γαστρεντερικές αλλά και εγκεφαλικές λειτουργίες την κάνει εξίσου σημαντική και στην παρουσία των αντίστοιχων ασθενειών. Η ύπαρξη ενός σταθερού εντερικού μικροβιώματος συμμετέχει στην κατάλληλη σηματοδότηση κατά μήκος του άξονα και στην υγεία του οργανισμού. Σε αντίθεση, η εντερική δυσβολία οδηγεί σε λανθασμένη σηματοδότηση του άξονα επηρεάζοντας το ΚΝΣ και αυξάνοντας τις πιθανότητες για εμφάνιση ασθενειών. Οι μεταβολές που παρουσιάζει η μικροχλωρίδα την καθιστούν είτε αίτιο της εμφάνισης τους είτε στόχο για τη θεραπεία τους.

Στην περίπτωση της παχυσαρκίας έχει παρατηρηθεί πως τα ποντίκια GF είναι πιο αδύνατα από τα υπόλοιπα ενώ η μεταμόσχευση μικροβίων μπορεί να αυξήσει έως και 60% το σωματικό τους λίπος παρά την μειωμένη πρόσληψη τροφής. Τα ποντίκια αυτά είναι ανθεκτικά στην αύξηση βάρους που μπορεί να οδηγήσει σε παχυσαρκία ενώ η αποίκιση με μικρόβια προκαλεί αλλοίωση στον μεταβολισμό των λιπαρών οξέων με αποτέλεσμα την αύξηση βάρους.



Εικόνα 16. Επικοινωνία εντέρου-εγκεφάλου στην υγεία.

Σε μικρότερη κλίμακα, αλλά σε ανερχόμενα αποδεικτική εξάρτηση με τον άξονα εγκεφάλου-εντέρου φαίνεται πως είναι και ο αυτισμός. Μία έρευνα σε 58 ασθενείς με αυτισμό έδειξε πως ένα ποσοστό >90% παρουσίαζαν γαστρεντερικά προβλήματα σε αντίθεση με την απουσία των συμπτωμάτων σε υγιή άτομα. Επιπλέον στοιχεία σε δείγματα κοπράνων των ασθενών έδειξαν αλλοιωμένη μικροχλωρίδα με αυξημένα επίπεδα του γένους Clostridium, ενώ τα συμπτώματα μπόρεσαν να καταπολεμηθούν με τη χρήση αντιβιοτικών. Τα σπόρια Clostridium φαίνεται πως ενισχύουν την υποτροπή της νόσου, γεγονός που μας κάνει να πιστεύουμε πως μία θεραπεία βασισμένη στην αντιμετώπιση αυτών των σπορίων θα μπορούσε να αυξήσει την περίοδο απουσίας των συμπτωμάτων (Grenham et al., 2011).

Εστιάζοντας στις γαστρεντερικές διαταραχές, το IBS μας δίνει τα περισσότερα και τα πιο ξεκάθαρα δεδομένα της σχέσης της μικροχλωρίδας με τις ασθένειες. Η κύρια επίδραση της μικροχλωρίδας στο σύνδρομο αυτό είναι η μεταλοιμώδης εμφάνιση IBS

(PI-IBS). Με τον όρο αυτό αναφερόμαστε στην ασθένεια IBS έπειτα από ένα επεισόδιο επιβεβαιωμένης βακτηριακής γαστρεντερίτιδας. Σύμφωνα με τις μελέτες οι ασθενείς αυτοί παρουσιάζουν σημαντική αύξηση των εντεροενδοκρινικών κυττάρων του βλεννογόνου του ορθού, αύξηση των T-λεμφοκυττάρων καθώς και αυξημένη εντερική διέλευση (Spiller, 2000). Οι μεταβολές που συμβαίνουν στην εντερική μικροχλωρίδα υπό συνθήκες IBS, μας δείχνουν τη συσχέτισή της με τη φλεγμονή του βλεννογόνου.

Η ανάμειξη του μικροβιώματος στις γαστρεντερικές αλλά και στις ασθένειες του ΚΝΣ φέρει πολλά αποδεικτικά στοιχεία. Οι μεταβολές στην ποικιλομορφία των βακτηριακών αποικιών επηρεάζουν την ομοιόσταση του οργανισμού, ενώ η παρατήρηση των αλλαγών αυτών μπορεί να μας καθοδηγήσει στη διάγνωση και τη θεραπεία. Δεδομένου πως ο διαχωρισμός της υγιούς εντερικής μικροχλωρίδας από αυτή της διαταραγμένης δεν είναι ακόμη ξεκάθαρος, είναι αρκετά υποσχόμενη η μελέτη των μεταβολικών της προϊόντων προκειμένου να κατανοήσουμε και να αξιοποιήσουμε αυτό το πλήθος βακτηριακών αποικιών προς όφελός μας.

## Κεφάλαιο 6. Γαστρεντερικές και Εγκεφαλικές Διαταραχές

Σε αντίθεση με την εύρυθμη λειτουργία του εντερικού συστήματος, οι δυσλειτουργίες αυτού συνοδεύονταν, όπως και μέχρι σήμερα, από αισθήματα ντροπής και άγχους. Είναι λοιπόν φανερό πως ο τρόπος με τον οποίο συμπεριφέρεται το έντερο μας επηρεάζει άμεσα την ψυχολογία και τη στάση απέναντι στους γύρω μας. Σε όλα αυτά τα χρόνια έχουν δοθεί εκφράσεις για να περιγράψουν τέτοιες καταστάσεις, όπως το «Δυσκολεύομαι να το καταπιώ», το «Νιώθω πεταλούδες στο στομάχι μου» ή το «Δεν μπορώ να το χωνέψω», «Είσαι αχώνευτος» κ.α. (Drossman, 2016).

### 6.1 Γενικά

Από την αρχαιότητα, η σωστή λειτουργία του εντέρου αποτελούσε ένδειξη καλής υγείας και ευημερίας. Για πρώτη φορά ο Έλληνας ιατρός Γαληνός διατύπωσε τη θεωρία πως τα συναισθήματα ενός ατόμου μπορούν να οδηγήσουν σε εμφάνιση ασθενειών. Η διαπίστωση αυτή έγινε αποδεκτή στην πορεία των χρόνων ενώ ακόμα και σήμερα οι παρενέργειες μιας νόσου που δεν μπορούν να αποδοθούν σε συγκεκριμένη παθοφυσιολογία χαρακτηρίζονται ως αποτέλεσμα ψυχογενών αιτιών (ENGEL, 1978).

Μέχρι και τα τέλη του 19ου αιώνα είχαν αναπτυχθεί δύο θεωρίες, ο ολισμός και ο καρτεσιανός δυϊσμός. Η έννοια του ολισμού διατυπώθηκε από τους Έλληνες Ιπποκράτη, Πλάτωνα και Αριστοτέλη σύμφωνα με τους οποίους ο νους και το σώμα είναι αδιαχώριστα, ενώ για τη θεραπεία μιας ασθένειας θα πρέπει να εστιάζουμε σε όλο το σώμα του ασθενή και όχι μόνο στο άρρωστο μέρος (Lipowski, 1986). Το 1637, ωστόσο, ο φιλόσοφος René Descartes έδωσε τη δική του θεωρία σύμφωνα με την οποία «ο σκεπτόμενος νους» διαχωρίζεται από το «μηχανικό σώμα» (Drossman, 1998).

Ο διαχωρισμός αυτός έδωσε νέα τροπή στην ιατρική διάγνωση καθώς μέχρι εκείνη τη στιγμή ο τεμαχισμός του ανθρώπινου σώματος δεν επιτρεπόταν. Με τον τρόπο αυτό ξεκίνησε η γνώση για την παθολογία των ασθενειών. Αυτή, όμως, η νέα μέθοδος και εξέλιξη πάνω στην ιατρική διάγνωση δεν κατάφερε να ερμηνεύσει και τις ψυχικές ασθένειες. Έτσι λοιπόν, μη βρίσκοντας κάποια αίτια στην ανατομία του οργανισμού, οι ψυχικές ασθένειες ή τα σωματικά συμπτώματα απουσία παθολογίας, χαρακτηρίστηκαν λιγότερο νόμιμα από τη δομική ασθένεια, στιγματίστηκαν και θεωρήθηκαν δεύτερης κατηγορίας (Drossman, 2005).

Στην πορεία των χρόνων οι ερμηνείες και οι αναλύσεις των ασθενειών γίνονταν με βάση την παρατήρηση. Η αρχή για μία ακόμα μεγάλη ιατρική ανακάλυψη έγινε το 1833, όταν ο ερευνητής William Beaumont είχε έναν ασθενή τραυματισμένο από πυροβολισμό που του επέτρεψε την άμεση παρατήρηση του χρώματος και της έκκρισης του γαστρικού βλεννογόνου. Στην πορεία και άλλοι ερευνητές έδωσαν βάση στην επίδραση που έχουν τα συναισθήματα στη γαστρεντερική λειτουργία και στον τρόπο με τον οποίο αντιδρά το έντερο σε διάφορες στρεσογόνες, κυρίως, καταστάσεις (Drossman, 1998).

## 6.2 Διαταραχές του Εντέρου

Οι γαστρεντερικές δυσλειτουργίες του εντέρου μπορούν να αναγνωριστούν σε πρώτο στάδιο μόνο από τα συμπτώματα. Βάση αυτών λοιπόν πραγματοποιείται και η κλινική διάγνωση. Σήμερα μπορούμε να χρησιμοποιούμε τα διαγνωστικά κριτήρια και τις συστάσεις διαχείρισης των FGIDs συγκεντρωμένα σε ομάδες, τα λεγόμενα κριτήρια της Ρώμης I, II και III (Lacy & Patel, 2017). Η πιο συχνή FGID είναι το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου ενώ ακόμα υπάρχουν η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση (GERD), η λειτουργική δυσφαγία, η λειτουργική δυσκοιλιότητα, η διάρροια, η γαστροπάρεση, η λειτουργική δυσπεψία και η ακράτεια κοπράνων. Τα συμπτώματα τα οποία χαρακτηρίζουν τις FGIDs είναι οι πόνοι στην κοιλιακή χώρα, η δυσπεψία, η γαστρεντερική παλινδρόμηση, η δυσκοιλιότητα, η διάρροια ή η ακράτεια, δυσλειτουργίες στη διέλευση τροφής ή κοπράνων κ.α. (Mukhtar et al., 2019).

Γνωρίζουμε, λοιπόν, πως τα αναφερόμενα ως «κοινά βακτήρια» μπορεί να είναι αβλαβή ή ακόμα και ευεργετικά για τον οργανισμό που τα φιλοξενεί. Μία πιθανή εντερική δυσβολία, είναι άμεσα συνδεδεμένη τόσο με γαστρεντερικές όσο και με εγκεφαλικές παθήσεις. Στην παχυσαρκία παρατηρείται μείωση του αριθμού των Bacteroidetes και οι Firmicutes, των δύο βασικών εντερικών βακτηρίων που ευνοούν τον οργανισμό (Ley et al., 2006). Ο υποσιτισμός, επίσης, μελετημένος σε παγκόσμια κλίμακα, είναι μία κατάσταση η οποία επηρεάζει τις μικροβιακές κοινότητες (Kau et al., 2011). Επιπλέον, η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (IBD) (Frank et al., 2007b), διάφορες νευρολογικές διαταραχές (Gonzalez et al., 2011) ακόμη και ο καρκίνος (Lupton, 2004) δίνουν σημάδια άμεσης συσχέτισης και εξάρτησης από την μικροχλωρίδα και τα μεταβολικά προϊόντα της.



Σύμφωνα με τα τελευταία δεδομένα ένας κοινός ορισμός για τις FGIDs αναφέρει πως αποτελούν διαταραχές της αλληλεπίδρασης εντέρου-εγκεφάλου και ταξινομούνται με βάση τα γαστρεντερικά συμπτώματα που περιλαμβάνουν διαταραχή εντερικής κινητικότητας, σπλαχνική υπερευαισθησία, αλλοιωμένη μικροχλωρίδα του εντέρου και διαταραγμένη λειτουργία του ΚΝΣ, της βλεννογονικής και της ανοσολογικής δράσης. Ωστόσο, επειδή ένα σύνδρομο μπορεί να είναι πιο περίπλοκο και να προκύπτει από ένα συνδυασμό των παραπάνω παραγόντων, για την αποτελεσματικότερη διαχείριση του συστήματος ταξινόμησης είναι σημαντική μια βιοψυχοκοινωνική προσέγγιση των ασθενειών που φέρουν αυτές τις διαταραχές.

#### 6.2.1 Σύνδρομο Ευερέθιστου Εντέρου

Το IBS είναι η πιο κοινή FGID και πρόσφατα χαρακτηρίστηκε ως διαταραχή του άξονα εντέρου-εγκεφάλου. Είναι μία χρόνια βιοψυχοκοινωνική διαταραχή που χαρακτηρίζεται κυρίως από υποτροπιάζοντα κοιλιακό άλγος και μη φυσιολογική μορφή και συχνότητα κοπράνων. Τα συμπτώματα παρατηρούνται σε ποσοστό 10-20% σε ενήλικες και εφήβους, ενώ ο γυναικείος πληθυσμός φαίνεται να πλήττεται περισσότερο. Στην περίπτωση του IBS ο κοιλιακός πόνος, ο οποίος προκαλεί διαταραγμένη αφόδευση, και γενικά οι μεταβολές στις συνήθειες του εντέρου αποτελούν τα πιο κοινά σημεία εμφάνισης της ασθένειας. Τα συμπτώματα στους ασθενείς είναι παροδικά στη διάρκεια του χρόνου, βλάπτοντας ωστόσο την ποιότητα ζωής σε προσωπικό και κοινωνικό επίπεδο, αλλά και απαιτώντας ένα υψηλό κόστος υγειονομικής περίθαλψης (Spiegel et al., 2004).

Το IBS χαρακτηρίζεται ως η «ασθένεια του στρες» καθώς διαφορετικοί τύποι στρες οφείλονται για την εμφάνιση και τη διαμόρφωση των συμπτωμάτων της νόσου (Mayer et al., 2001). Οι πιο πρόσφατες μελέτες δείχνουν πως πέρα από τη γενετική προδιάθεση, οι ψυχοκοινωνικοί παράγοντες, το χρόνιο και οξύ στρες αλλά και οι γαστρεντερικές λοιμώξεις μεταβάλλουν την μικροχλωρίδα του εντέρου. Τα τελευταία χρόνια, λόγω της αλληλεξάρτησης μεταξύ τους, η μικροχλωρίδα έχει ενσωματωθεί ως επέκταση στον άξονα εντέρου-εγκεφάλου, μιλώντας πλέον για τον άξονα «μικροχλωρίδας-εντέρου-εγκεφάλου», αποτελώντας σημαντικό παράγοντα εμφάνισης της νόσου.

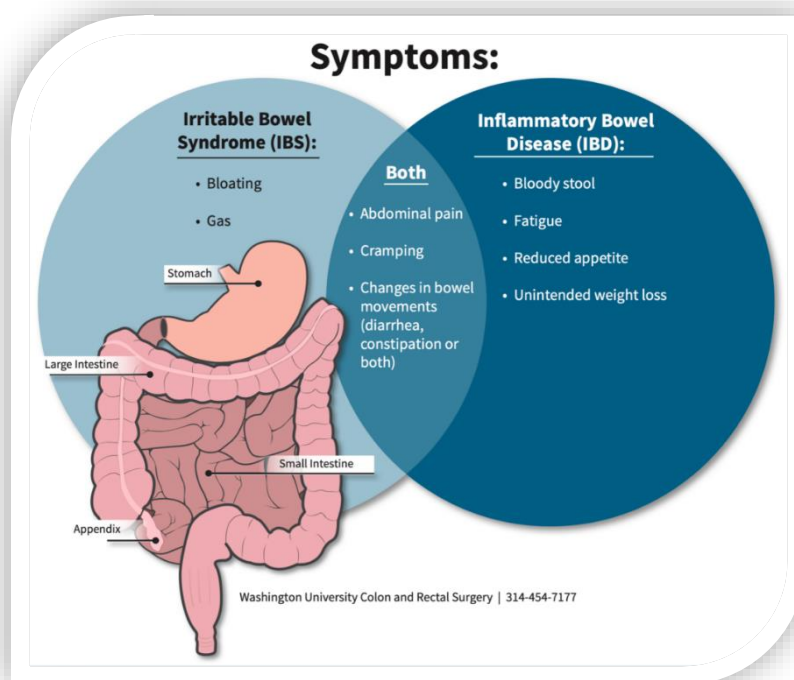
Ο όρος «IBS» χρησιμοποιείται ευρέως για να περιγράψει το σύνολο των ανεξήγητων διαταραχών που προκαλούνται από δυσλειτουργίες κατά την επικοινωνία του εγκεφάλου και του εντέρου. Λόγω αυτών των μη συγκεκριμένων αιτιών δεν είναι εφικτό να οριστούν βιοδείκτες και θεραπευτικοί στόχοι. Οι διαταραχές μεταξύ των δύο οργάνων οφείλονται σε διάφορες αιτίες όπως η σπλαχνική υπερευαισθησία, οι διαταραχές της εντερικής κινητικότητας, οι μεταβολές στη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου, προβλήματα στη λειτουργία του ΚΝΣ και χαμηλού βαθμού φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Η μικροχλωρίδα του εντέρου, καθώς είναι μοναδική για το κάθε άτομο, είναι προσαρμοσμένη στις ανάγκες του ξενιστή και διεξάγει μεταβολικές και βιοχημικές διεργασίες που είναι απαραίτητες για τη λειτουργία του. Οι πληροφορίες που προέρχονται από τη μικροχλωρίδα συμβάλουν στην ομοίωση του οργανισμού μέσω των νευρικών, ανοσολογικών και ενδοκρινών οδών που βρίσκονται μεταξύ του εντέρου και του εγκεφάλου (Ford et al., 2020).

Η δυσκολία στο να οριστεί μια φυσιολογική μικροχλωρίδα λόγω της ετερογένειάς της αλλά και των πολλαπλών παραγόντων από τους οποίους διαμορφώνεται, κάνει δύσκολο και το χαρακτηρισμό μιας μικροχλωρίδας με IBS. Έχουν υπάρξει έρευνες που δείχνουν διαφορές μεταξύ πρότυπου μικροβιώματος και μικροβιώματος με IBS. Σε μία πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση παρατηρήθηκε πως τα άτομα που νοσούν από την ασθένεια παρουσιάζουν αυξημένες αποικίες από Bacteroidaceae, Lactobacillaceae και Clostridiaceae, ενώ τα Faecalibacterium και Bifidobacterium παρουσίασαν μείωση του αριθμού τους (Pittayanon et al., 2019). Αντίθετα από την έρευνα αυτή, μια άλλη ομάδα ερευνητών δεν παρατήρησε κάποια σημαντικά αξιολογούμενη διαφορά στη μικροχλωρίδα των ατόμων που νοσούσαν (Hugerth et al., 2020). Σε κάθε περίπτωση απαιτούνται περαιτέρω μελέτες ώστε να διευκρινιστεί εάν η αναλογία αυτών των βακτηρίων είναι η αιτία εμφάνισης της νόσου ή το αποτέλεσμα αυτής.

#### 6.2.2 Φλεγμονώδης Νόσος του Εντέρου

Η IBD είναι μία χρόνια, φλεγμονώδης διαταραχή του γαστρεντερικού σωλήνα που περιλαμβάνει κυρίως τη νόσου του Crohn και την ελκώδη κολίτιδα. Το βακτηριακό προφίλ της νόσου χαρακτηρίζεται από αυξημένες αποικίες Gammaproteobacteria και Enterobacteriaceae και από μειωμένες αποικίες των Clostridia, Firmicutes και

Lactobacillus, ενώ μεταβολές παρουσιάζουν εξίσου και οι αντίστοιχοι μικροβιακοί μεταβολίτες. Οι μεταβολές στη σύσταση της μικροχλωρίδας είναι κλινικά αποδεκτές στη παθολογία της IBD, ενώ η διαπερατότητα του εντερικού φραγμού συνεπάγεται και με μετατόπιση των βακτηρίων προς το βλεννογόνο στρώμα, αλληλοεπιδρώντας με τις ανώμαλες ανοσολογικές αποκρίσεις και τον τραυματισμό των ιστών. Ωστόσο, βρίσκεται υπό μελέτη το αν η μικροβιακή αλλοίωση είναι η αιτία ή η συνέπεια της εντερικής φλεγμονής (Khan et al., 2019).



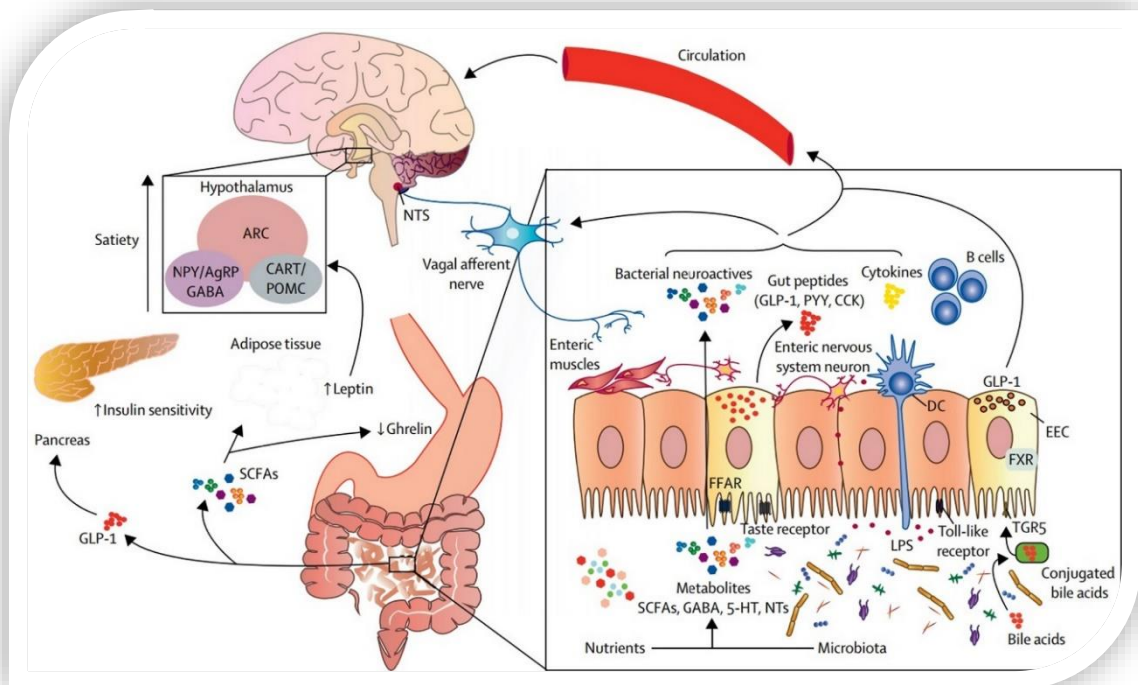
Εικόνα 17. Διάγνωση των ασθενειών IBS και IBD με βάση τη συμπτωματολογία.

Αν και η νόσος του IBD μπορεί να προκληθεί από διάφορους παράγοντες (Guan, 2019), η εντερική μικροχλωρίδα είναι ο κυριότερος από αυτούς. Έχει παρατηρηθεί πως τα μικρόβια και η γενικευμένη ομοίωση της εντερικής μικροχλωρίδας είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη φλεγμονής κατά την IBD. Σε όλα, σχεδόν, τα πειραματικά μοντέλα που μελετήθηκαν χωρίς μικρόβια, η νόσος είτε δεν εκδηλώθηκε καθόλου είτε εξασθένησε μετά την εμφάνισή της. Οι ασθενείς με IBD παρουσιάζουν μειωμένη ανάπτυξη των συμβιωτικών βακτηρίων καθώς και εκείνων που παράγουν SCFA. Η έλλειψη των SCFA που ωφελούν τον οργανισμό διαταράσσει τον πληθυσμό των κυττάρων με αποτέλεσμα να παράγονται αυξημένες ποσότητες προφλεγμονωδών κυτοκινών. Εξαιτίας αυτής της ανισορροπίας ο εντερικός φραγμός υφίσταται βλάβες μη

μπορώντας να ελέγξει τη βακτηριακή διείσδυση με αποτέλεσμα να ενεργοποιείται ένας φλεγμονώδης καταρράκτης ενάντια στα εισερχόμενα βακτηρία. Φαίνεται πως η διάσπαση του εντερικού φραγμού και οι μεταβολές στο στρώμα της βλέννας και των επιθηλιακών κυττάρων, με ταυτόχρονη έκκριση AMP, έχουν επίδραση στην παθοφυσιολογία της νόσου (D. Zheng et al., 2020b).

### 6.2.3 Παχυσαρκία

Ο γαστρεντερικός σωλήνας ελέγχει τη λειτουργία κατάποσης τροφής και τη ρύθμιση του σωματικού βάρους μέσω της αφομοίωσης θρεπτικών συστατικών και του μεταβολισμού. Η αμφίδρομη σχέση εντέρου-εγκεφάλου επηρεάζει το σωματικό βάρος ενώ η κατανόηση του μηχανισμού λειτουργίας του μπορεί να αξιοποιηθεί για τη θεραπεία της παχυσαρκίας ή άλλων μεταβολικών ασθενειών. Τα αυξανόμενα επίπεδα παχυσαρκίας έστρεψαν τους ερευνητές να αναζητήσουν πιθανές αιτίες σε αυτήν τη σχέση, ερμηνεύοντας τον τρόπο με τον οποίο ανταλλάσσουν ερεθίσματα ο εγκέφαλος με τον εντερικό σωλήνα προκειμένου να προληφθεί ή να αντιστραφεί η παχυσαρκία (Berthoud et al., 2021).



Εικόνα 18. Απεικόνιση της δράσης του άξονα εντέρου-εγκεφάλου στην παχυσαρκία.

Η παχυσαρκία δείχνει να οφείλεται σε μία πολύπλοκη και πολυπαραγοντική αιτιολογία. Από τις κλινικές μελέτες συμπεραίνουμε ότι ο άξονας εντέρου-εγκεφάλου συμμετέχει ενεργά στην εμφάνιση της νόσου. Η εντερική μικροχλωρίδα και οι βακτηριακοί μεταβολίτες μπορούν μέσω του άξονα να στοχεύσουν τον εγκέφαλο και να ρυθμίσουν το μεταβολισμό, την ομοιόσταση, την ενεργειακή ισορροπία, τη λιπαρότητα και την κεντρική σηματοδότηση της όρεξης, δηλαδή να ελέγξουν παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η εμφάνιση της παχυσαρκίας.

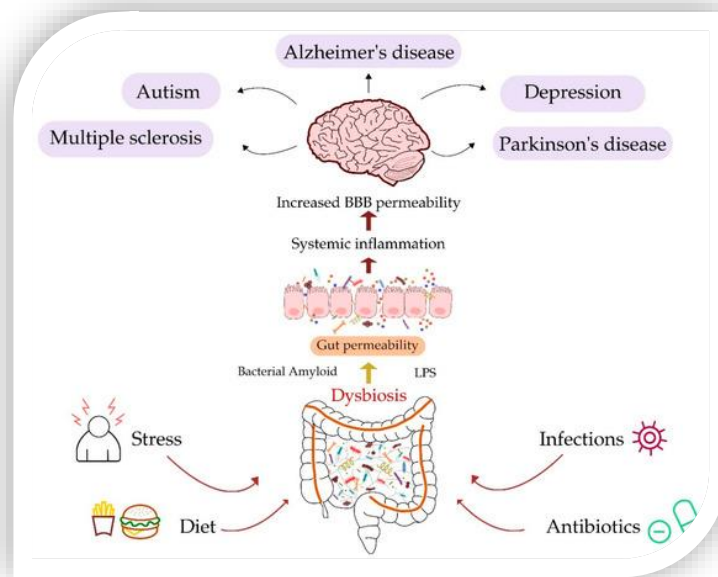
Μεταξύ του γαστρεντερικού σωλήνα και του εγκεφάλου επεκτείνεται και δρα ένα πολύπλοκο δίκτυο νευρώνων και ορμονών, οι υποδοχείς των οποίων ρυθμίζουν την όρεξη, την πρόσληψη τροφής και κατ' επέκταση την παχυσαρκία. Η είσοδος θρεπτικών ουσιών στο γαστρεντερικό σωλήνα, μέσω της τροφής, προκαλεί νευρική και ορμονική σηματοδότηση στον εγκέφαλο. Το έντερο μεταδίδει τις πληροφορίες, χρησιμοποιώντας οδούς επικοινωνίας όπως το VN, προς ένα τμήμα του εγκεφάλου, το NTS. Στη συνέχεια οι πληροφορίες μεταφέρονται στον υποθάλαμο όπου έχει αποδειχθεί πως από εκεί ρυθμίζονται η όρεξη, η πρόσληψη τροφής κ.α.

Έχει παρατηρηθεί, επίσης, πως ορισμένα βακτήρια μπορούν να επεμβαίνουν και να τροποποιούν την έκκριση ορμονών του εντέρου, επηρεάζοντας μέσω των νευροενδοκρινικών οδών του υποθαλάμου την όρεξη και τον κορεσμό. Τα SCFA του μικροβιώματος συνδέονται στους υποδοχείς των ECCs επηρεάζοντας την απελευθέρωση των εντερικών ορμονών στη συστηματική κυκλοφορία. Συγκεκριμένα, το οξικό, το κύριο SCFA που εκκρίνεται από τα εντερικά βακτήρια, έχει την ικανότητα μέσω των κεντρικών υποθαλαμικών μηχανισμών να καταστέλλει την όρεξη. Η αυξημένη παραγωγή οξικού οξέος από μία αλλοιωμένη εντερική μικροχλωρίδα ενεργοποιεί το παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα, το οποίο ευθύνεται για την αυξημένη έκκριση ινσουλίνης, την υπερφαγία και την παχυσαρκία (Asadi et al., 2022). Η αλληλεπίδραση των θρεπτικών ουσιών με την εντερική μικροχλωρίδα που προάγει την παρασυμπαθητική ενεργοποίηση θέτει το παρασυμπαθητικό σύστημα ως ένα νέο πιθανό θεραπευτικό στόχο για την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας (Perry et al., 2016).

### 6.3 Διαταραχές του Εγκεφάλου

Η επίδραση που ασκεί η μικροχλωρίδα στον εγκέφαλο μπορεί εύκολα να αναγνωρισθεί έπειτα από σκόπιμη παρέμβαση σε αυτήν. Για παράδειγμα, τα προβιοτικά έχουν

ευεργετικές ιδιότητες για τον οργανισμό ενισχύοντας την γνωστική του λειτουργία και περιορίζοντας τα επίπεδα άγχους και στρες. Τα αντιβιοτικά επιδρούν στη μικροβιακή ποικιλομορφία με αποτέλεσμα να προκύπτει μειωμένη αγχώδης συμπεριφορά, ενώ ακόμη, η μόλυνση με παθογόνα βακτήρια αυξάνει το άγχος και μειώνει τις γνωστικές ικανότητες. Νέα δεδομένα δείχνουν πως το άγχος μπορεί να μεταδοθεί σε έναν οργανισμό μέσω της μεταμόσχευσης κοπράνων, κάτι όμως που βρίσκεται ακόμα υπό διερεύνηση (Luczynski et al., 2016a).



Εικόνα 19. Η επίδραση της μικροβιακής διαταραχής στην εμφάνιση ασθενειών του ΚΝΣ.

Οι επιδράσεις που ασκούν οι μεταβολές της εντερικής μικροχλωρίδας στον εγκέφαλο μέσω του άξονα εντέρου-εγκεφάλου γίνονται όλο και πιο αντιληπτές. Οι μεταβολές στη γαστρεντερική λειτουργία και η εμφάνιση γαστρεντερικών συμπτωμάτων συνοδεύονται από διαταραχές στο ΚΝΣ, ενώ σε πολλές περιπτώσεις, όπως στην περίπτωση της νόσου του Parkinson (PD), προηγούνται από την εμφάνιση των κεντρικών νευρολογικών συμπτωμάτων (Bove & Travagli, 2019). Η μικροβιακή δυσβολία οδηγεί στη διαπερατότητα του εντέρου επιδρώντας στη συστηματική φλεγμονή και προκαλώντας τις ασθένειες του ΚΝΣ.

### 6.3.1 Νόσος Alzheimer

Η νόσος Alzheimer (AD) αποτελεί την πιο γνωστή μορφή νευροεκφυλιστικής διαταραχής. Η κύρια αιτία εμφάνισης της δεν είναι πλήρως κατανοητή. Έχουν ανακαλυφθεί

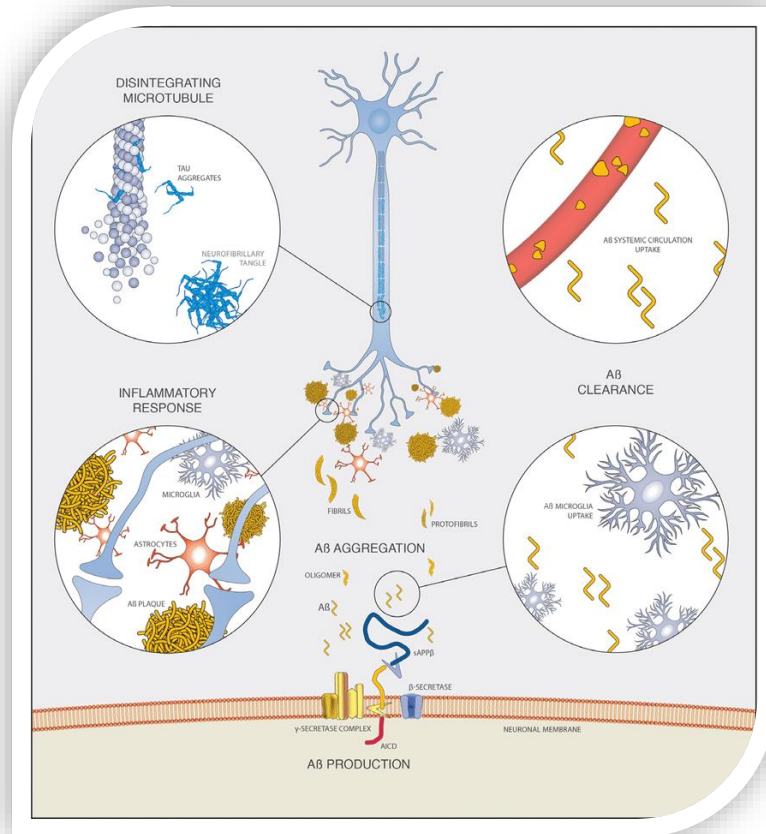
βιοδείκτες που βοηθούν στη διάγνωση της, ωστόσο, τα κλινικά συμπτώματα συνήθως εμφανίζονται πολλά χρόνια μετά τις πρώτες παθολογικές αλλαγές στον εγκέφαλο. Λόγω της προοδευτικής εμφάνισης της στο χρόνο, η τρίτη ηλικία πλήττεται πιο πολύ από όλες τις ηλικιακές ομάδες. Στην περίπτωση της AD παρατηρείται σταδιακή συσσώρευση πρωτεϊνών μέσα στα εγκεφαλικά κύτταρα αντί για την αποδόμηση και την αποβολή τους από την περιοχή του εγκεφάλου. Η αύξηση αυτών των πρωτεϊνών οδηγεί στην πρόωρη θανάτωση των κυττάρων. Οι πρωτεΐνες αυτές έχουν ταυτοποιηθεί και αποτελούνται από την πρωτεΐνη Ταυ και τις πρωτεΐνες αμυλοειδούς-β (Αβ). Η Αβ σχηματίζεται έπειτα από τη διάσπαση της πρόδρομης πρωτεΐνης αμυλοειδούς (APP) (Blennow & Zetterberg, 2018).

Η κύρια και πιο επικρατούσα θεωρία υποστηρίζει πως η AD προκαλείται από σταδιακή συσσώρευση της Αβ με τη μετέπειτα εναπόθεση της Ταυ. Επίσης τα διαλυτά ολιγομερή των πρωτεϊνών αυτών ενοχοποιούνται για επιβλαβής επιδράσεις στον εγκεφαλικό ιστό. Μία άλλη θεωρία υποστηρίζει πως στην εμφάνιση της νόσου συμμετέχει και το ανοσοποιητικό σύστημα. Τα αυξημένα επίπεδα Αβ μπορούν να αναγνωριστούν από το ανοσοποιητικό σύστημα ως ξένες ουσίες και να αντιδράσει στην παρουσία τους προκαλώντας φλεγμονή. Η ενεργοποίηση του φλεγμονώδους καταρράκτη μπορεί να οδηγήσει σε νευρωνική βλάβη (Doroszkiewicz et al., 2021c).

Σε πιο πρόσφατες αναζητήσεις έχει αρχίσει να επικρατεί η άποψη πως η αφετηρία για την εκδήλωση της AD δεν είναι ο εγκέφαλος αλλά το έντερο και αυτό γιατί η νευροφλεγμονή κατά την εμφάνιση της νόσου συσχετίζεται με αλλοιώσεις της μικροχλωρίδας του εντέρου. Σε ασθενείς με υπερέκφραση της APP έχουν βρεθεί συσσωρευμένα επίπεδα Αβ στο γαστρεντερικό τους σωλήνα. Στο φαινόμενο αυτό βασίστηκε και μία έρευνα κατά την οποία πραγματοποιήθηκε χορήγηση ολιγομερών του Αβ<sub>1-42</sub> στο τοίχωμα της γαστρεντερικής οδού ποντικών. Αυτό που παρατηρήθηκε είναι πως στο πέρασμα του χρόνου τα ολιγομερή συσσωρεύτηκαν στους χολινεργικούς υποδοχείς μέσω του υποβλεννογόνου. Στη διάρκεια ενός μήνα ανιχνεύθηκαν στη νήστιδα με την ίδια να παρουσιάζει έπειτα από ένα χρόνο λειτουργικές αλλοιώσεις της νευρομυϊκή της σύζευξης. Στη φάση αυτή τα Αβ εντοπίστηκαν τόσο στο VN όσο και στον εγκέφαλο, ενώ σημειώθηκαν και γνωστικά προβλήματα στα ζωικά μοντέλα. Τα ολικά συμπεράσματα έπειτα από την παρακολούθηση της πορείας των ολιγομερών δείχνουν πως η ικανότητά τους να μετατοπίζονται από τη γαστρεντερικό σωλήνα στον εγκέφαλο



προκαλεί διαταραχές στη γαστρεντερική λειτουργία, αμυλοείδωση στο ΚΝΣ και άνοια σε επίπεδο AD (Y. Sun et al., 2020). Η μετανάστευση του αμυλοειδούς ίσως καταφέρει να οδηγήσει τους ερευνητές σε έναν τρόπο σύνδεσης μεταξύ της νευροφλεγμονής στη AD και του εντερικού μικροβιώματος.



Εικόνα 20. Εναπόθεση αμυλοειδούς-β στη νόσο Alzheimer.

Προκειμένου τα ευρήματα που έχουν βρεθεί σε ζωικά μοντέλα να επιβεβαιωθούν και στους ανθρώπους, χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές αλληλούχισης γονιδίων σε ανθρώπινα δείγματα κοπράνων υγιών ατόμων και ατόμων με AD. Τα δεδομένα της ανάλυσης έδειξαν πως οι ασθενείς παρουσίασαν διαταραγμένη μικροβιακή ποικιλομορφία με κοινή μείωση των ειδών Firmicutes και Bifidobacterium, ενώ αύξηση παρουσίασαν στο είδος Bacteroidetes (Vogt et al., 2017). Σε μία παρόμοια σύγκριση υγιών μαρτύρων και ατόμων με αμυλοείδωση εγκεφάλου ανιχνεύθηκαν στη δεύτερη ομάδα αυξημένα επίπεδα των προφλεγμονωδών βακτηρίων Escherichia και Shigella με αντίστοιχη μείωση του αντιφλεγμονώδους Eubacterium rectale (Cattaneo et al., 2017).



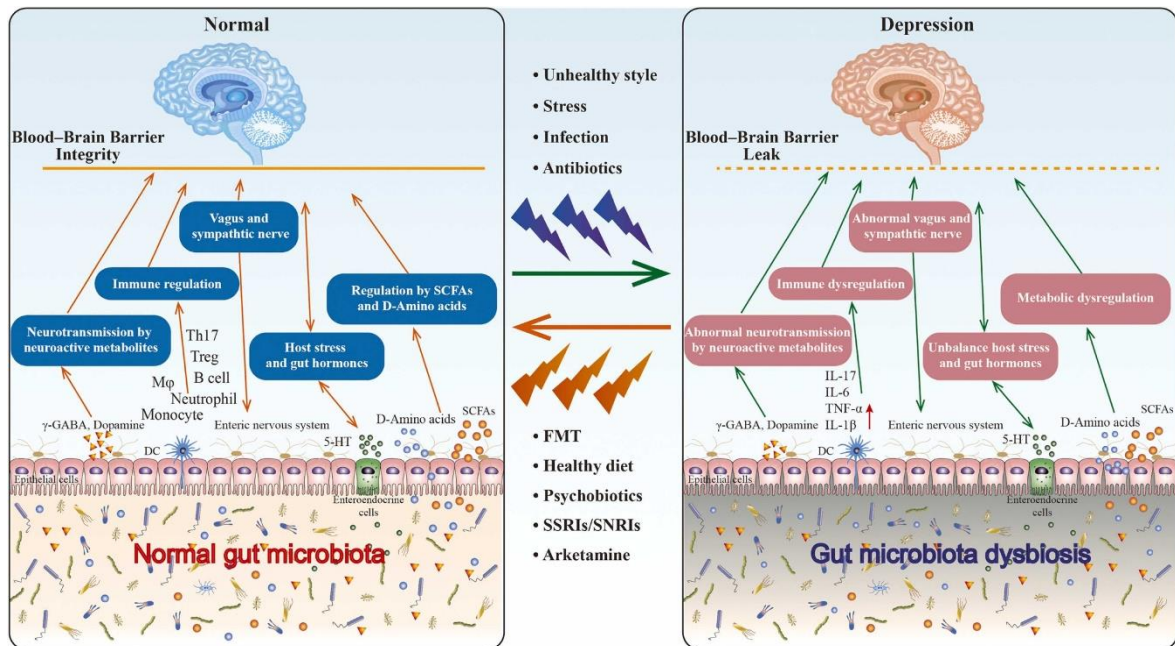
Ένα πολλά υποσχόμενο εύρημα εντοπίστηκε στην επιφάνεια των βακτηριακών κυττάρων στο έντερο. Η πρώτη παρατήρηση έγινε στο είδος της *Escherichia coli*. Σε αυτά, έπειτα από αναλύσεις, βρέθηκε πως οι ίνες που παράγονταν στην επιφάνειά τους και ονομάζονταν *curli* ήταν αμυλοειδής (Charman et al., 2002). Στην πορεία το ίδιο χαρακτηριστικό βρέθηκε και σε άλλα είδη όπως ο στρεπτόκοκκος, ο σταφυλόκοκκος, η κλεμψιέλα και η σαλμονέλα. Έχει βρεθεί πως το βακτηριακό αμυλοειδές συμμετέχει στη δημιουργία ενός μικροβιακού βιοφίλμ, το οποίο εμποδίζει την εξάλειψη των εντερικών μικροβίων. Οι έρευνες επικεντρώνονται στις τριτοταγές δομές του βακτηριακού αμυλοειδούς και του αμυλοειδούς στο ΚΝΣ που παρουσιάζουν σημαντική ομοιότητα, με την παρουσία του πρώτου στο έντερο να ευθύνεται για πιθανή ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος. Χάρη την ικανότητα των βακτηριακών αμυλοειδών να περνούν, υπό παθογόνες καταστάσεις, μέσω του εντερικού φραγμού στο υπόλοιπο σώμα, έχει γίνει άμεση συσχέτιση τους με την εμφάνιση της AD (Doroszkiwicz et al., 2021c).

Η AD δείχνει να είναι ακόμα μία ασθένεια στην οποία θα έχει εφαρμογή η μεταφορά υγιούς μικροβιώματος από έναν υγιή οργανισμό σε έναν ασθενή. Μια τέτοια μεταφορά από υγιή ποντίκια σε ποντίκια με AD οδήγησε σε ομαλοποίηση της εντερικής μικροχλωρίδας βελτιώνοντας τις γνωστικές λειτουργίες και μειώνοντας το σχηματισμό πλακών Αβ και νευροϊνιδιακών συμπλεγμάτων καθώς και τη νευρογλοιακή αντιδραστικότητα (Kim et al., 2020). Αντίστοιχα θετικά αποτελέσματα πραγματοποιώντας μεταμόσχευση μικροβιώματος είχαμε και σε ανθρώπους με λοίμωξη *Clostridium difficile* στους οποίους έπειτα από τη μεταμόσχευση βελτιώθηκε η γνωστική τους απόδοση (Park et al., 2021).

### 6.3.2 Κατάθλιψη

Η μείζων καταθλιπτική διαταραχή (MDD) περιλαμβάνεται στις ψυχικές παθήσεις με αρκετά εξουθενωτικά συμπτώματα. Έχει παρατηρηθεί πως η διαταραγμένη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση συμπτωμάτων κατάθλιψης. Μία κατάσταση παρατεταμένου στρες ή μια δημιουργία λοίμωξης ίσως να οδηγήσουν στο φαινόμενο της δυσβολίας. Τα νευρικά, ανοσολογικά και χημικά σήματα που μεσολαβούν μεταξύ του εντέρου και του εγκεφάλου ρυθμίζουν, με αμφίδρομη σχέση, τις διαταραχές αυτές και επομένως την εμφάνιση MDD. Πειραματικές μελέτες

έχουν δείξει πως η χρήση αντικαταθλιπτικών, ψυχοβιοτικών, η διατροφή και η μεταμόσχευση μικροβίων κοπράνων (FMT), μπορούν μέσω του άξονα εντέρου-εγκεφάλου να διορθώσουν μικροβιακές ανωμαλίες στη μικροχλωρίδα, να αποκαταστήσουν τυχόν εγκεφαλικές δυσλειτουργίες και να αντιμετωπίσουν τα καταθλιπτικά συμπτώματα του οργανισμού (Chang et al., 2022b).



Εικόνα 21. Ο ρόλος του άξονα εντέρου-εγκεφάλου στην κατάθλιψη.

Έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε ζωικά μοντέλα δείχνουν πως η MDD επηρεάζει τη σταθερότητα της μικροχλωρίδας, αναγνωρίζοντας τη σύνδεση με τον άξονα εντέρου-εγκεφάλου και ορίζοντάς τον ως έναν πιθανό στόχο για την καταπολέμηση της ασθένειας. Σε μία σύγκριση κοπράνων ασθενών με κατάθλιψη και υγιών ατόμων σημειώθηκαν μειωμένα επίπεδα BDNF και αρνητική συσχέτιση των αποικιών *Faecalibacterium* σε σχέση με την σοβαρότητα των καταθλιπτικών συμπτωμάτων (H. Jiang et al., 2015b). Μία πιο πρόσφατη μελέτη ανάλυσης κοπράνων χρησιμοποίησε μονονουκλεοτιδικές ακριβείς παραλλαγές αλληλουχίας amplicon (ASV), ενός νουκλεοτιδίου που ανιχνεύεται στο εντερικό μικροβίωμα των ασθενών, με σκοπό να καταφέρει την ταυτοποίηση ατόμων με φαινότυπο κατάθλιψης. Η ανάλυση του DNA με βάση την ομαδοποίηση ταξινομικών κατηγοριών μικροβίων και την ανάλυση δικτύου μεταβολικών οδών έδειξε πως η μικροβιακή σύσταση σε κατάσταση δυσβολίας μπορεί

να μας δώσει διαγνωστικά μέσα για τον εντοπισμό των ατόμων με MDD (Stevens et al., 2021).

Με την χρήση μεταγονιδιωματικών μεθόδων και μη στοχευμένων μεταβολικών μεθόδων ολόκληρου του γονιδιώματος, οι ερευνητές κατάφεραν να εντοπίσουν 3 βακτηριοφάγους, 50 μεταβολίτες και 47 βακτηριακά είδη που η αφθονία τους μεταξύ των υγιών ατόμων και των ασθενών παρουσίαζε χαρακτηριστική διαφορά. Η διαταραγμένη εντερική μικροχλωρίδα και τα μεταβολικά παράγωγά της στα κόπρανα των ασθενών περιλάμβαναν μεταξύ άλλων *Blautia* sp. Marseille P2398, *Oscillibacter* sp. ER4, L-ομοσερίνη και φωσφορικό άλας, τα οποία μπορούν να αποτελέσουν πιθανούς δείκτες της ασθένειας (Yang et al., 2020).

Αναλύοντας λίγο πιο βαθιά την MDD θα μας ήταν αρκετά χρήσιμο εάν μπορούσε να γίνει διάκριση της από τη διπολική διαταραχή (BD) για διαγνωστικούς και θεραπευτικούς σκοπούς. Γνωρίζοντας ελάχιστα για τα κοινά και διακριτά χαρακτηριστικά στους βακτηριακούς πληθυσμούς των δύο ασθενειών, μια έρευνα βασισμένη στην αλληλουχία γονιδίων 16s ριβοσωμικού RNA διαπίστωσε πως υπάρχουν διαφορετικά μικροβιακά χαρακτηριστικά μεταξύ των περιστατικών. Η σύγκριση με τους υγιής μάρτυρες έδειξε πως τα δείγματα ατόμων με MDD παρουσίαζαν τροποποιημένες συμμεταβλητές λειτουργικές ταξινομικές μονάδες (OTUs) προερχόμενες από το *Bacteroidaceae*, ενώ στα δείγματα με BD οι OTUs προέρχονταν από τα *Prevotellaceae*, *Lachnospiraceae* και *Ruminococcaceae* (P. Zheng et al., 2020).

### 6.3.3 Νόσος Parkinson

Η νόσος του PD αποτελεί εξίσου μια πολύ σοβαρή νευροεκφυλιστική διαταραχή, με έρευνες να κάνουν λόγο για πιθανή σύνδεσή της με τη λειτουργικότητα του άξονα εντέρου-εγκεφάλου. Η εμφάνισή της σε άτομα ηλικίας άνω των 40 ετών και η επιδείνωσή της με τα χρόνια τη χαρακτηρίζουν ως χρόνια, προοδευτική ασθένεια. Τα συμπτώματα που παρουσιάζει μπορεί να αφορούν την κίνηση, με το αίσθημα τρόμου, τη βραδυκίνησια και την αστάθεια της στάσης σώματος ή τη γνωστική λειτουργία με τη κατάθλιψη, το άγχος και τις διαταραχές κατά τη διάρκεια του ύπνου να αποτελούν τα κύρια γνωρίσματα της. Ιστοπαθολογικά, η εναπόθεση λανθασμένης, αδιάλυτης α-συνουκλειΐνης συσσωρεύεται στους νευρώνες σε σωματίδια Lewy, οδηγώντας σε νευροεκφυλισμό (Chartier & Duyckaerts, 2018). Η αιτιολογία της στρέφεται προς το

θάνατο των ντοπαμινεργικών νευρώνων, με αποτέλεσμα να χάνεται η νευροδιαβίβαση της ντοπαμίνης και να οδηγούμαστε στην εμφάνιση των συμπτωμάτων, ενώ όπως και στην περίπτωση της AD η νευροφλεγμονή φαίνεται να συμμετέχει εξίσου στην παθοφυσιολογία της νόσου (Pajares et al., 2020).

Στις πιο πρόσφατες αναζητήσεις, η διαταραγμένη εντερική μικροχλωρίδα δείχνει να έχει συμμετοχή στην εμφάνιση της νόσου. Τα χαρακτηριστικά μιας διαταραγμένης μικροχλωρίδας όπως η χρόνια τοπική φλεγμονή ή η εντερική διαπερατότητα αποτελούν χαρακτηριστικά γνωρίσματα της. Κατά την PD το ΕΝΣ και τα παρασυμπαθητικά νεύρα επηρεάζονται πιο νωρίς και πιο συχνά από τη μεταβολή της α-συνουκλεΐνης. Ως αποτέλεσμα, διάφορα προβλήματα γαστρεντερικής λειτουργικότητας, κυρίως η δυσκοιλιότητα, εμφανίζονται και συνήθως προηγούνται από άλλα κινητικά προβλήματα της νόσου. Είναι γνωστό πως η εντερική μικροχλωρίδα μπορεί και επικοινωνεί με το ΑΝΣ και το ΚΝΣ μέσω του ΕΝΣ και του VN. Τα ευρήματα σε δείγματα κοπράνων δείχνουν πως η μικροχλωρίδα σε ασθενής με PD παρουσιάζει φανερή μικροβιακή μεταβολή, ορίζοντας τη μικροχλωρίδα ως πιθανό βιοδείκτη της νόσου (Scheperjans et al., 2015).

Με βάση τα νέα δεδομένα που συνεχώς ανακαλύπτονται, έχει αρχίσει να επικρατεί η θεωρία πως η PD μπορεί να προέρχεται από το έντερο. Η άποψη αυτή βασίζεται στο γεγονός πως τα μη κινητικά της συμπτώματα που σχετίζονται με το γαστρεντερικό σύστημα είναι αρκετά συχνά κατά την ασθένεια. Η υπερσειελόρροια, που οφείλεται στη μειωμένη κατάποση και η δυσκοιλιότητα είναι οι πιο συχνές δυσλειτουργίες του πεπτικού συστήματος. Η δυσκοιλιότητα, εκτός από τις αλλαγές στην κινητικότητα του εντέρου, είναι πιθανό να συνδέεται με εκφυλισμό του ΕΝΣ που προκαλείται από συσσώρευση της α-συνουκλεΐνης, τη τοπική φλεγμονή και την αυξημένη εντερική διαπερατότητα. Αυτές οι γαστρεντερικές δυσλειτουργίες έχει παρατηρηθεί πως προηγούνται των νευρολογικών εκδηλώσεων (Doroszkiwicz et al., 2021c).

Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ασθενής με PD, έδειξαν πως υπάρχει αυξημένη αφθονία εντεροβακτηριοειδών. Ο πληθυσμός αυτός φάνηκε να σχετίζεται με την αστάθεια στη στάση σώματος των ασθενών (Scheperjans et al., 2015). Σε αντίθεση με την αύξηση των εντεροβακτηριοειδών, σε μια άλλη μελέτη οι αποικίες των Prevotellaceae και Lachnospiraceae φάνηκαν να μειώνονται αισθητά στα δείγματα

κοπράνων (Vascellari et al., 2020). Αυτά τα δύο είδη βακτηρίων ανήκουν στην κατηγορία των κοινών συμβιωτικών μικροβίων και συμμετέχουν σε διάφορες διεργασίες του οργανισμού-ξενιστή. Συγκεκριμένα, τα Lachnospiraceae παίρνουν μέρος στην παραγωγή SCFAs, με τις αντιφλεγμονώδεις και προστατευτικές ιδιότητες για το έντερο, ενώ τα Prevotellaceae συμμετέχουν στην παραγωγή βλεννών, ουσιών απαραίτητων για την εντερική διαπερατότητα (Doroszkiewicz et al., 2021c). Σημαντική είναι και η ανακάλυψη πως η FMT από υγιή ποντίκια σε ποντίκια με PD βελτίωσε τη μικροβιακή σύνθεση και μείωσε τη συγκέντρωση των SCFAs στα κόπρανα. Επίσης, μείωσε την ενεργοποίηση των μικρογλοίων και των αστροκυττάρων στον εγκέφαλο τους, αποδεικνύοντας πως η FMT μπορεί να βελτιώσει τα συμπτώματα της PD σε ποντίκια καταστέλλοντας τη νευροφλεγμονή (M.-F. Sun et al., 2018).

Η PD συγκαταλέγεται στις ασθένειες στις οποίες η έναρξη των συμπτωμάτων και πιθανότατα και η αιτία της εκδήλωσής τους δείχνει να ξεκινάει από τις μικροβιακές μεταβολές της εντερικής μικροχλωρίδας. Η παρατήρηση του μικροβιώματος αποτελεί ένα πολύ σημαντικό κομμάτι της διάγνωσης καθώς οι μεταγονιδιωματικές αναλύσεις των κοπράνων θα μπορούσαν να αποτελέσουν την οδό για την πρόγνωση και τη διάγνωση των ασθενειών αυτών.

## Κεφάλαιο 7. Αποκατάσταση Μικροβιακής Ομοιότητας

Οι μελέτες του μικροβιώματος τείνουν όλο και περισσότερο να εφαρμοστούν, πέρα από τα ζωικά πειραματικά μοντέλα και στον άνθρωπο. Ο προσδιορισμός μικροβιακών βιοδεικτών στην εντερική μικροχλωρίδα μπορεί να βοηθήσει την ιατρική διάγνωση και καθώς η ανάγνωση του μικροβιώματος αποτελεί έναν απλό τρόπο μετάφρασης μπορεί να συνεισφέρει στην κλινική πρακτική.

### 7.1 Το Μικροβίωμα ως Βιοδείκτης

Οι ερευνητικές μελέτες των τελευταίων ετών στοχεύουν στην ανακάλυψη βιοδεικτών μέσω της παρατήρησης του μικρόκοσμου της εντερικής μικροχλωρίδας. Μία μελέτη κατά την οποία χορηγήθηκαν βακτηριακά προβιοτικά σε ποντίκια, σύγκρινε την ανάπτυξη μελανώματος καθώς και την αντικαρκινική ανοσία. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η χορήγηση *Bifidobacterium*, γνωστό για τις αντικαρκινικές επιδράσεις του, σχεδόν εξάλειψε την ανάπτυξη του όγκου. Τα στοιχεία αυτά μας οδηγούν στο συμπέρασμα πως η επέμβαση στη μικροχλωρίδα, με συγκατοίκηση ή έπειτα από μεταφορά κοπράνων, μπορεί να ρυθμίσει την ανοσοθεραπεία του καρκίνου, ενώ ο προσδιορισμός των βακτηρίων που εμπλέκονται τα ίδια ή τα παράγωγά τους στην αντίσταση της ανάπτυξης όγκων μπορούν να βοηθήσουν στη μείωση πιθανών φλεγμονωδών επιπλοκών μετά από ανοσοθεραπείες (Sivan et al., 2015).

Το σύνολο όλων αυτών των μελετών και των αναλύσεων αποτελεί σημαντική γνώση για τη σύνδεση της δομής, της λειτουργίας και της δράσης των μεταβολικών προϊόντων της εντερικής μικροχλωρίδας στον οργανισμό και την υγεία του. Η ανάγνωση του μικροβιώματος ήδη από τη βρεφική ηλικία και στην πορεία της ανάπτυξης είναι σημαντική καθώς μας δίνει γνώσεις σχετικά με τα χαρακτηριστικά μιας υγιούς μικροχλωρίδας αλλά και για τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των ανοσοποιητικών, ενδοκρινικών και νευρολογικών παθήσεων. Φυσικά και τα δεδομένα απαιτούν ακόμα μεγαλύτερη συσχέτιση και πιο ακριβής σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων και των οργανισμών ώστε να οριστεί μία κοινή γραμμή διάγνωσης και θεραπείας, ωστόσο η συνεχής μελέτη του μικροβιώματος υπόσχεται να αποφέρει βιοδείκτες ικανούς να ενισχύσουν πολλούς κλάδους της ιατρικής.

## 7.2 Αντιβιοτικά

Ο μεγάλος πληθυσμός των βακτηρίων στο γαστρεντερικό σύστημα καθιστά τα κύτταρα αυτά επικίνδυνα για τον οργανισμό ανά πάσα ώρα και στιγμή. Ο περιορισμός και ο έλεγχος του αριθμού τους γίνεται με τη βοήθεια του εντερικού ανοσοποιητικού συστήματος που αποτρέπει τη «διαφυγή» των βακτηρίων μέσω του εντερικού φραγμού (Hooper & Macpherson, 2010). Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται ευρέως για την καταπολέμηση των λοιμώξεων βελτιώνοντας κατά πολύ τις συνθήκες νοσηλείας και το προσδόκιμο ζωής. Ωστόσο, η παρατεταμένη χρήση τους σε παιδική ηλικία έχει συσχετιστεί με την μετέπειτα παρουσία ασθενειών, όπως των IBS και IBD.

Ένας πρώτος φραγμός άμυνας για τον έλεγχο των βακτηρίων είναι η παραγωγή βλέννας, αντιμικροβιακών πρωτεϊνών και IgA, με σκοπό να ενισχυθεί ο φυσικός φραγμός και να περιοριστεί η επικοινωνία τους με τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα. Στην περίπτωση που διεισδύσουν στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων, τότε αυτά ανιχνεύονται και θανατώνονται από έναν δεύτερο μηχανισμό άμυνας ο οποίος στελεχώνεται από τα T κύτταρα. Τα T κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, μέσω ενός πολύπλοκου συνόλου αποκρίσεων, φαγοκυτταρώνουν τα βακτήρια που κατάφεραν και ξέφυγαν από τον φυσικό φραγμό. Ένας τρίτος φραγμός προστασίας δημιουργείται από τους μεσεντέριους λεμφαδένες που προστατεύουν το ανοσοποιητικό σύστημα από την διείσδυσή του από τους μικροοργανισμούς. Μέσω αποκρίσεων οι λεμφαδένες περιορίζουν την εξάπλωση τους στο ανοσοποιητικό τμήμα του βλεννογόνου (Hooper & Macpherson, 2010).

Η μικροχλωρίδα στην πορεία της ζωής ενός ατόμου παραμένει σχετικά σταθερή. Μεγαλύτερες μεταβολές παρατηρούνται στα πρώτα και στα τελευταία χρόνια της ζωής ενός ατόμου (Claesson et al., 2011b). Η σύνθεση της μπορεί να μεταβληθεί επηρεασμένη από εξωτερικούς παράγοντες, κυρίως με τη χρήση αντιβιοτικών. Η υπερβολική χρήση αντιβιοτικών προκαλεί μεταβολές στη φυσιολογική μικροχλωρίδα και αυξάνει τον πληθυσμό των παθογόνων βακτηρίων που είναι ανθεκτικά στα αντιβιοτικά. Η ανάπλαση της φυσιολογικής μικροχλωρίδας του εντέρου έπειτα από τη χρήση αντιβιοτικών μπορεί να είναι μακροπρόθεσμη έως και μη ιάσιμη. Οι βακτηριακοί πληθυσμοί αργούν να ανακάμψουν από τις μεταβολές που έχουν προκαλέσει τα αντιβιοτικά, επιτρέποντας τον αποικισμό σε ξένα μικρόβια που μπορούν να προκαλέσουν πληθώρα ασθενειών και μόνιμων βλαβών στον οργανισμό (Clemente et al., 2012).

Μελέτες, όπως η παρατήρηση της χορήγησης αμοξικιλίνης (Mcburney, 1999) ή της κλιδαμυκίνης, αποδεικνύουν πως τα αντιβιοτικά προκαλούν μεταβολές στο εντερικό μικροβίωμα για διάστημα από 6 μήνες έως και 2 χρόνια αντίστοιχα (Jernberg et al., 2007; Lofmark et al., 2006). Η παρατήρηση της αύξησης των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά γονιδίων στο ανθρώπινο μικροβίωμα έπειτα από επαναλαμβανόμενη χρήση αυτών, καθώς και η παρατήρηση της μείωσης των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά παθογόνων ύστερα από μείωση των αντιβιοτικών θεραπειών, τείνουν να οδηγήσουν στην ελεγχόμενη χορήγηση θεραπειών βασιζόμενες σε αντιβιοτικά (Sommeretal., 2009)(Goossensetal., 2005).

Η δυσβίωση που προκαλείται από τη χορήγηση αντιβιοτικών μπορεί να μεταβάλει διαφορετικές ομάδες και λειτουργίες των ανοσοκυττάρων. Για παράδειγμα, η λήψη αντιβιοτικών από αρουραίους προκαλεί αναστολή της ενεργοποίησης των μαστοκυττάρων του εντερικού βλενογόννου προάγοντας την απορρόφηση των λιπιδίων. Η διαταραχή της εντερικής ομοιόστασης που προκαλείται από τα αντιβιοτικά και η εξασθένηση των SCFA οδηγεί σε υπερέκφραση των εντερικών μακροφάγων, παράγοντας περίσσειες ποσότητες φλεγμονωδών κυτοκινών και αυξάνοντας την ευαισθησία του οργανισμού στις λοιμώξεις. Ακόμα, τα αντιβιοτικά ως μέσο θεραπείας ευνοούν την ανάπτυξη εντερικών μυκήτων, όπου μέσω της πόλωσης των πνευμονικών μακροφάγων M2 ενισχύεται η εμφάνιση αλλεργικής φλεγμονής των αεραγωγών (D. Zheng et al., 2020b).

Η δυσκολία να απομονωθούν και να μελετηθούν σε καθαρές καλλιέργειες πολλοί από τους μικροοργανισμούς της ανθρώπινης μικροχλωρίδας, μέχρι πρόσφατα, (Biteenetal., 2016) ξεπεράστηκε με την ανακάλυψη νέων μεθόδων που προσπερνούν τις συνθήκες καλλιέργειας και αποσκοπούν στην ανάλυση των ταυτοτήτων και των λειτουργικών ρόλων των μικροοργανισμών. Τις μεθόδους αυτές αποτελούν η μεταγονιδιωματική, η μεταγραφομική και η μεταπρωτεομική οι οποίες βασίζουν την δράση τους στην αλληλούχιση, ενός μέρους του γονιδιώματος, του γονιδίου 16s rRNA. Η χρήση των τεχνολογιών αλληλούχισης με τη συνεχώς εξελισσόμενη επιστήμη της βιοπληροφορικής καθιστούν την έρευνα των γονιδίων πιο εύκολη και φθηνότερη διαδικασία (Karakanetal., 2021).



### 7.3 Χορήγηση Μικροβίων για Θεραπευτικούς Σκοπούς

Ένας ακόμη τρόπος, πέρα από τα αντιβιοτικά, που μας επιτρέπει να επεμβούμε στην εντερική μικροχλωρίδα ώστε να αναπλάσουμε τυχόν αλλοιώσεις ή να θεραπεύσουμε σχετικές ασθένειες είναι η χορήγηση ζωντανών βακτηρίων ή συστατικών αυτών. Οι οργανισμοί αυτοί έχουν σκοπό να αποικίσουν και να τροποποιήσουν το μικροβίωμα συμβάλλοντας στην αποκατάσταση της ομοιόστασής του.

#### 7.3.1 Προβιοτικά

Όπως ήδη γνωρίζουμε, οι συνήθειες ενός νεογνού επηρεάζουν κατά πολύ τη λειτουργική συμπεριφορά του εντερικού του μικροβιώματος στο μέλλον. Στα βρέφη που θηλάζουν η μικροχλωρίδα τους χαρακτηρίζεται από στελέχη των *Bifidobacteria* και *Lactobacilli*, ενώ μέσω του μητρικού γάλακτος, πέρα των άλλων ουσιών, φαίνεται οι ολιγοσακχαρίτες να έχουν άμεση επίδραση σε αυτήν. Σε εξετάσεις βρεφικών κοπράνων τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι ολιγοσακχαρίτες ανθρώπινου γάλακτος, οι οποίοι μεταβολίζονται ελάχιστα στο λεπτό έντερο, περνάνε στο παχύ έντερο αποτελώντας τα πρώτα προβιοτικά του ανθρώπου (Corra et al., 2004). Οι ομάδες αυτών των μικροοργανισμών έχουν την δυνατότητα να διασπούν τροφικές ουσίες απελευθερώνοντας θρεπτικά συστατικά απαραίτητα για τον ξενιστή, στα οποία αυτός δεν θα μπορούσε να έχει πρόσβαση με διαφορετικό τρόπο. Επίσης προωθούν τη διαφοροποίηση των κυττάρων ξενιστών αλλά παράλληλα τον προστατεύουν από τον αποικισμό άλλων παθογόνων ομάδων προκαλώντας την ενεργοποίηση και ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος.

Οι συνεχήs μελέτες για την θεραπεία των FGIDs καθιστούν τα προβιοτικά, δηλαδή τη χορήγηση ζωντανών οργανισμών, ως μία επιλογή για την αντιμετώπιση ψυχικών, νευρολογικών και αναπτυξιακών διαταραχών που οφείλονται στην εντερική διαπερατότητα. Η δράση τους επικεντρώνεται στην παραγωγή SCFAs, στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος και στην ενίσχυση της λειτουργικότητας του εντερικού φραγμού. Υπάρχει ήδη ένα πλήθος μελετών και αναλύσεων που αποδεικνύουν πως η χορήγηση προβιοτικών μπορεί να βελτιώσει τα συμπτώματα των παραπάνω διαταραχών. Για παράδειγμα, η λήψη προβιοτικών που περιείχαν *Lactobacillus Helveticus* R0052 *B. Longum* R0175 παρουσίασε σημαντική ανακούφιση από τα συμπτώματα άγχους και κατάθλιψης (Messaoudi et al., 2011). Μία αξιόλογη ανακάλυψη παρατηρήθηκε σε παιδιά με αυτισμό, έδειξε πως τα προβιοτικά μπόρεσαν,

αποκαθιστώντας τη διαταραγμένη μικροχλωρίδα και μειώνοντας τη φλεγμονή, να περιορίσουν τα συμπτώματα διαταραγμένης συμπεριφοράς (Critchfield et al., 2011).

Μία ακόμα ασθένεια πάνω στην οποία έχει ξεκινήσει να μελετάται η επίδραση που θα μπορούσαν να έχουν τα προβιοτικά είναι αυτή του COVID-19. Η επαναφορά της εντερικής ομοιόστασης αποτρέπει τον αποικισμό του εντέρου από ξένα, παθογόνα βακτήρια. Η λοίμωξη από τον ιό SARS-CoV-2 προκαλεί μειωμένη μεταφορά ζωτικών διαιτητικών συστατικών, καταστάσεις προφλεγμονώδους εντέρου, συστηματική φλεγμονή και αυξημένη διαπερατότητα του εντέρου. Οι μετρήσεις σε ασθενείς με COVID-19 παρουσιάζουν μια αύξηση του αριθμού των παθογόνων μικροοργανισμών όπως των Στρεπτόκοκκου, *Veillonella* και *Actionomyces* με παράλληλη μείωση των κοινών συμβιωτικών βακτηρίων. Θα μπορούσε, λοιπόν, η μικροχλωρίδα του εντέρου να αποτελέσει στόχο θεραπείας για την ασθένεια τροποποιώντας και βελτιώνοντας τη σύστασή της με τη χρήση προβιοτικών (Sajdel-Sulkowska, 2021).

Τα προβιοτικά έχουν δοκιμαστεί και αποτελούν ένα πιθανό μελλοντικό τρόπο να θεραπεύσουμε διάφορες ασθένειες στοχεύοντας στο μικροβίωμα. Τα αποτελέσματα των μελετών χρειάζονται περαιτέρω διερεύνηση καθώς έχει βρεθεί πως τα προβιοτικά συμπληρώματα μπορούν να αλλάξουν την σύνθεση του μικροβιώματος του εντέρου, ωστόσο, η συλλογική μεταγραφική κατάσταση του μικροβιώματος δείχνει να επηρεάζεται ελάχιστα. Με βάση αυτό το δεδομένο είναι απαραίτητη πέρα από την αλληλούχιση του 16s rRNA, να πραγματοποιείται μεταγονιδιωματική ή μεταβολομική ανάλυση των δειγμάτων ώστε να παρουσιάζονται οι πραγματικές μεταβολές της επίδρασης των προβιοτικών (Margolis et al., 2021a).

### 7.3.2 Πρεβιοτικά

Τα πρεβιοτικά αποτελούν επιλεκτικά ζυμωμένα συστατικά που συνεισφέρουν στις αλλαγές της σύνθεσης και της δραστηριότητας του μικροβιώματος προάγοντας την ανάπτυξη των ωφελούμενων εντερικών βακτηρίων. Στις κλινικές μελέτες έχει παρατηρηθεί πως η κατανάλωση πρεβιοτικών επηρεάζει ενεργά τη γαστρεντερική λειτουργία επεμβαίνοντας στο μεταβολισμό των λιπιδίων, στη δράση ανοσοποιητικού συστήματος, στην απορροφητικότητα του ασβεστίου και στη γενικότερη λειτουργικότητα του εντέρου (Loo et al., 2005).

Η χορήγηση πρεβιοτικών για τη θεραπεία της παχυσαρκίας αύξησε τις αποικίες των ωφέλιμων βακτηρίων *Bifidobacterium* και *Lactobacillus* spp. στο γαστρεντερικό σωλήνα. Τα βακτήρια αυτά παρουσιάζουν λειτουργίες που ενισχύουν τις δράσεις έναντι της παχυσαρκίας όπως είναι η αυξημένη παραγωγή SCFA, η ενισχυμένη λειτουργία του εντερικού φραγμού κ.α. Επίσης, τα πρεβιοτικά τύπου ινσουλίνης ενισχύουν την ανάπτυξη Γαλακτοβακίλλων και *Bifidobacteria* καθώς και τη μείωση της συγκέντρωσης γκρελίνης στον ορό, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται και η πρόσληψη τροφής (Asadi et al., 2022).

### 7.3.3 Συνβιοτικά

Τα συνβιοτικά αποτελούν ένα συνδυασμό προβιοτικών και πρεβιοτικών με σκοπό τη μεγιστοποίηση των ευεργετικών αποτελεσμάτων για την υγεία του οργανισμού. Η χορήγησή τους στοχεύει στην αύξηση της επιβίωσης των προβιοτικών στο γαστρεντερικό σωλήνα με σκοπό την παράταση των ωφέλιμων χαρακτηριστικών τους στο έντερο και κατ' επέκταση στον οργανισμό. Τα συνβιοτικά ελέγχουν, μεταξύ άλλων, τη μεταβολική δραστηριότητα και την αποτροπή αποίκησης από παθογόνα βακτήρια. Επιπλέον, μειώνουν τον αριθμό των ανεπιθύμητων μεταβολιτών και αυξάνουν τα SCFA (Asadi et al., 2022).

Στον ανθρώπινο οργανισμό, τα συνβιοτικά, παρουσιάζουν ένα πλήθος ωφέλιμων μεταβολών. Πέρα από την αποκατάσταση της μικροβιακής ομοιόστασης, βελτιώνουν την ηπατική λειτουργία, ενισχύουν τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, αναστέλλουν τη βακτηριακή μετατόπιση και μειώνουν τις πιθανότητες εμφάνισης νοσοκομειακών λοιμώξεων έπειτα από χειρουργικές επεμβάσεις. Ακόμη, μειώνουν τα επίπεδα σακχάρου και λίπους στο αίμα, προλαμβάνουν την οστεοπόρωση και συμβάλλουν στη θεραπεία των εγκεφαλικών διαταραχών (Pandey et al., 2015).

## 7.4 Μέθοδοι Μελέτης και Ανίχνευσης Εντερικών Αποικιών

Η μελέτη της μικροχλωρίδας του εντέρου πραγματοποιείται έπειτα από συλλογή δειγμάτων κοπράνων με σκοπό να απομονωθεί το DNA και να γίνει η ταυτοποίηση και καταμέτρηση των γαστρεντερικών μικροοργανισμών. Οι αρχικές, ωστόσο, τεχνικές καλλιέργειας μπορούσαν να απομονώσουν μόλις το 10-25% των αποικιών και αυτό γιατί οι περισσότεροι μικροοργανισμοί είναι αναερόβιοι. Η εξέλιξη στις αναερόβιες

καλλιέργειες κατάφερε να απομονώσει στελέχη των *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* κ.α. Οι πρακτικές δυσκολίες αυτής της μεθόδου είναι το μεγάλο χρονικό διάστημα που απαιτείτε αλλά και η δυσδιάκριτη μελέτη των μικροβιακών καλλιεργειών σε μια πλάκα petri. Με σκοπό να παρακάμψουμε αυτές τις δυσκολίες στην καλλιέργεια των μικροβίων, πλέον, χρησιμοποιούνται ευρέως οι τεχνολογίες αλληλούχισης επόμενης γενιάς οι οποίες μας βοηθάνε να μελετήσουμε το εντερικό μικροβίωμα. Σε αυτές τις τεχνικές ανήκουν η αλληλούχιση του γονιδίου 16s RNA, η μοριακή ταυτοποίηση μυκήτων με τη βοήθεια του γονιδίου 18s rRNA, η εσωτερική αλληλούχιση μεταγραφόμενου διαχωριστή (ITS), η ιομική αλληλούχιση και η μεταμεταγραφομική αλληλούχιση κυνηγετικού όπλου (Gao et al., 2021a).

#### 7.4.1 Γονίδιο 16s RNA

Το 16s rRNA αποτελεί ένα γονίδιο υπομονάδας ριβοσωμικού RNA των βακτηριακών ειδών. Η δομή του αποτελείται από περιοχές που μένουν κοινές σε όλα τα είδη βακτηρίων αλλά και από υπερμεταβλητές περιοχές που απαντώνται μόνο σε συγκεκριμένα γένη και μας βοηθάει να τα διαχωρίζουμε από τα υπόλοιπα. Η αλληλούχιση 16s rRNA χρησιμοποιεί τη μέθοδο της PCR ώστε να ανιχνεύσει και να ενισχύσει τα τμήματα των υπερμεταβλητών περιοχών με σκοπό την ταυτοποίηση μιας βακτηριακής κοινότητας. Για την ανάλυση των δεδομένων αλληλούχισης έχει βοηθήσει κατά πολύ ο κλάδος της βιοπληροφορικής. Τα εργαλεία που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν κυρίως την επεξεργασία δεδομένων και ποιοτικού ελέγχου, την ταξινομική ανάθεση και τον χαρακτηρισμό της κοινότητας.

Ο ποιοτικός έλεγχος αποτελεί το πρώτο στάδιο της διαδικασίας. Σε αυτόν περιλαμβάνονται εκτός από τον ποιοτικό έλεγχο, η αφαίρεση προσαγωγέα, το φιλτράρισμα και η περικοπή για την αφαίρεση τεχνουργημάτων καθώς και μολυσματικές αναγνώσεις αλληλουχίας που πιθανόν προέρχονται από προσμείξεις δειγμάτων ή παραλείψεις στα βήματα της προετοιμασίας των δειγμάτων (Zhou et al., 2014).

Σε επόμενο στάδιο, η ταξινομική ανάθεση αποτελεί ένα σημαντικό βήμα της ανάλυσης δεδομένων αλληλούχισης 16s rRNA. Για τη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται δύο διαφορετικές τεχνικές. Η μία ανάλυση είναι βασισμένη σε OTU και η δεύτερη είναι βασισμένη σε μία παραλλαγή ακολουθίας amplicon (ASV). Τα OTUs ορίζονται από την ομοιότητα της αλληλουχίας, με τις αναγνώσεις να ανήκουν στον ίδιο OTU όταν η

ομοιότητα της ακολουθίας τους βρίσκεται, συνήθως, στο 97% και άνω. Σε αντίθεση με αυτή τη μέθοδο, η ASV δεν βασίζεται σε ένα αυθαίρετο όριο ανομοιότητας αλλά χρησιμοποιεί μία διαδικασία αποθορυβοποίησης ώστε να αναγνωρίσουν της βιολογικές αλληλουχίες του δείγματος πριν την δημιουργία σφαλμάτων ενίσχυσης και αλληλούχισης, γεγονός που μας επιτρέπει να διαχωρίζουμε δείγματα με διαφορά ακόμη και ενός νουκλεοτιδίου (Callahan et al., 2017). Συμπεραίνουμε λοιπόν, πως αυτή η διαφορετική προσέγγιση της μεθόδου ASV μας δίνει ταξινομικά αποτελέσματα υψηλότερης ανάλυσης.

Παρά το γεγονός πως και οι δυο μέθοδοι μας δίνουν φυλογενετικές πληροφορίες των βακτηρίων, οι βασικές τεχνικές ανάλυσης 16s δεν έχουν τη δυνατότητα να μας παρέχουν τη λειτουργική γονιδιακή σύνθεση ενός βακτηριακού πληθυσμού. Ωστόσο, οι φυλογενετικές πληροφορίες έχουν άμεση συσχέτιση με την βιομοριακή λειτουργία, δίνοντας τη δυνατότητα να προβλέψουμε το λειτουργικό περιεχόμενο του μεταγονιδιώματος από δεδομένα 16s.

#### 7.4.2 Μεταγονιδιωματική, Μεταγραφομική, Μεταπρωτεομική και Μεταβολομική Αλληλούχιση

Η μεταγονιδιωματική είναι η διαδικασία αλληλούχισης του DNA σε ένα δείγμα. Σε αντίθεση με τις μεθόδους που στοχεύουν σε ένα γονιδίωμα, η μεταγονιδιωματική συνήθως στοχεύει σε πολλά. Η απόδοση των αποτελεσμάτων, ωστόσο, μπορεί να εμποδιστεί από τη γονιδιωματική ποικιλομορφία και τη μεταβλητή αφθονία εντός των πληθυσμών (Miller et al., 2010). Η μεταγονιδιωματική αλληλούχιση κυνηγετικού όπλου μας δίνει τη δυνατότητα να ανιχνεύσουμε ολόκληρο το μεταγονιδίωμα του δείγματος χωρίς τη χρήση συγκεκριμένου εκκινητή.

Σε αντίθεση με τις άλλες μεθόδους μικροβιακής ανάλυσης, οι οποίες βασίζονται στα γονίδια, η μεταγονιδιωματική αλληλούχιση μας παρέχει πληροφορίες για τη σύνθεση των γονιδίων και τη λειτουργική δράση του εντερικού μικροβιώματος. Η μέθοδος αυτή αποτελεί τον πιο αποτελεσματικό και ολοκληρωμένο τρόπο συλλογής δομικών και λειτουργικών πληροφοριών της μικροχλωρίδας, αν και η διαδικασία της είναι πιο δαπανηρή, πιο χρονοβόρα και απαιτεί επαρκή ποσότητα κα ποιότητα δειγμάτων DNA σε αντίθεση με τις μεθόδους ανίχνευσης γονιδίων. Τα στάδια εφαρμογής περιλαμβάνουν τη συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων, την εκχύλιση

νουκλειϊκού οξέος, την προετοιμασία μεταγονιδιωματικής βιβλιοθήκης, τον ποιοτικό έλεγχο και την ανάλυση δεδομένων.

Μία από τις αναλύσεις στις οποίες βρίσκει εφαρμογή η μεταγονιδιωματική είναι η αλληλεπίδραση μεταξύ των εντερικών βακτηρίων και του ξενιστή. Αν και ακόμα δεν είναι πλήρως κατανοητές οι σχέσεις μεταξύ αυτών των δύο, σε μία έρευνα όπου χρησιμοποιήθηκε τεχνολογία ελέγχου υψηλής απόδοσης, μελετήθηκαν οι εντερικές μικροβιακές οδοί στη γαστρεντερική οδό. Διαπιστώθηκε ότι οι μεταγονιδιωματικοί κλώνοι *E. Coli* έχουν τη δυνατότητα να ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό του εντερικού βλεννογόνου μέσω των επιθηλιακών κυττάρων. Σε μία άλλη, πιο πρόσφατη έρευνα, με τη βοήθεια της μεταγονιδιωματικής αλληλούχισης, παρατηρήθηκε πως οι επιφανειακές πρωτεΐνες των θετικά κατά Gram βακτηρίων του εντερικού μικροβιώματος είχαν σημαντικές επιπτώσεις στην ανοσολογική απόκριση (W.-L. Wang et al., 2015).

Αξίζει να σημειωθεί πως για πιο ακριβή και αξιόπιστα αποτελέσματα η ανάλυση της μεταγονιδιωματικής αλληλουχίας βασίζεται σε δύο μοντέλα ανάγνωσης, αυτό της ευθυγράμμισης και αυτό της συναρμολόγησης. Η προσέγγιση με βάση την ευθυγράμμιση προσδιορίζει την ταξινόμηση και το λειτουργικό προφίλ των αναγνώσεων χαρτογραφώντας τις με γνωστά μικροβιακά γονιδιώματα αναφοράς ή αναζητώντας τις σε βάσεις δεδομένων πρωτεϊνών από διαφορετικούς χαρτογράφους. Από την άλλη, η προσέγγιση με συναρμολόγηση βασίζεται στην ανακατασκευή πολλαπλών γονιδιωμάτων, ακόμη και αν κάποια παραμένουν άγνωστα, ενώ εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την επικάλυψη του γονιδιώματος (Gao et al., 2021b).

Παρ' όλο που η μεταγονιδιωματική μας δίνει πληροφορίες για τα μικροβιακά γονίδια και για τη σύνθεση του γονιδιώματος, παρουσιάζει ορισμένους περιορισμούς στην απόδοση της γονιδιακής έκφρασης. Η διαδικασία βασίζεται στην απομόνωση γενετικού υλικού από τα βιολογικά δείγματα, ωστόσο είναι αρκετά δύσκολο να διαπιστωθεί εάν αυτό το DNA προέρχεται από βιώσιμα ή νεκρά κύτταρα ή αν η έκφραση των γονιδίων πραγματοποιείται κάτω από ορισμένες συνθήκες. Το πρόβλημα αυτό μπορούμε να το προσπεράσουμε με τη χρήση της μεταγραφομικής, η οποία μας επιτρέπει να προσδιορίσουμε εάν τα ανιχνεύσιμα γονίδια προέρχονται από ενεργά μικροβιακά μέλη του μικροβιώματος ή όχι. Η μεταγραφομική συμπληρώνει τη μεταγονιδιωματική αλληλούχιση κυνηγετικού όπλου, διευκρινίζοντας με ακρίβεια ποια από τα γονίδια που ανιχνεύθηκαν στη μεταγονιδιωματική ανάλυση μεταγράφονται και

σε ποιο βαθμό, όπου με βάση το μικροβιακό RNA αναλύεται η δραστηριότητα και η επίδραση των μικροοργανισμών του εντέρου στις ασθένειες, όπως της IBD (Schirmer et al., 2018).

Και στην περίπτωση της μεταγραφομικής συναντάμε ορισμένους περιορισμούς που δυσκολεύουν την απόδοση των αποτελεσμάτων. Πρώτον, είναι δύσκολο να συλλεχθεί ικανοποιητική ποσότητα και ποιότητα RNA από τα δείγματα, ενώ το mRNA που απαιτείται είναι αρκετά λιγότερο σε ποσότητα από ότι οι υπόλοιποι τύποι RNA. Δεύτερον, το mRNA παρουσιάζει σύντομο χρόνο ημίσειας ζωής με αποτέλεσμα να δυσχεραίνει την ανίχνευση ταχείας και βραχυπρόθεσμης απόκρισης στις περιβαλλοντικές αλλαγές. Τέλος, για την ανάγνωση των αποτελεσμάτων, οι βάσεις δεδομένων αναφοράς είναι περιορισμένες (Simon & Daniel, 2011).

Εξίσου σημαντική στην κατανόηση των μικροβιακών δραστηριοτήτων του εντέρου είναι και η πρωτεομική. Η ανάλυση των πρωτεϊνών και η μελέτη της σύνθεσης της μικροχλωρίδας μας έχει δώσει πληροφορίες σχετικά με τη σταθερότητα του εντερικού μεταπρωτεώματος σε ορισμένο διάστημα, αλλά και για τον προσδιορισμό ορισμένων βασικών λειτουργιών, όπως ο μεταβολισμός και η μεταφορά των υδατανθράκων. Αν και υπάρχουν, και σε αυτή την περίπτωση, ανεπαρκείς βάσεις δεδομένων αναφοράς, είναι σημαντικό να καταγράψουμε την πολύπλοκη σειρά με την οποία παράγονται από την εντερική μικροχλωρίδα οι πρωτεΐνες (Kolmeder et al., 2012).

Σήμερα, εξελίσσοντας την ανάλυση των γονιδίων και εισχωρώντας πιο βαθιά στις μεταβολικές διεργασίες των βακτηρίων, πολλές διαταραχές που δείχνουν να οφείλονται στο έντερο, αναλύονται με βάση τη μεταβολομική. Για παράδειγμα, η μελέτη του μικροβιώματος ασθενών με ελκώδη κολίτιδα έδειξε πως έφεραν αυξημένες συγκεντρώσεις ταυρίνης και πτωμαβερίνης, ενώ σε ασθενείς με IBD βρέθηκαν υψηλότερα επίπεδα χολικών οξέων και χαμηλότερα λιπαρών οξέων διακλαδισμένης αλυσίδας (Le Gall et al., 2011). Στην κλινική πράξη, η χρήση της μεταβολομικής περιορίζεται από την απουσία ορισμένων μεταβολιτών από τις βάσεις δεδομένων καθώς και από την ανάμειξη λανθανόντων μεταβολιτών στην ανάλυση της αλληλεπίδρασης του ξενιστή με τους μικροβιακούς μεταβολίτες του εντέρου. Τα εμπόδια αυτά περιορίζουν την κατανόηση της μικροβιακής λειτουργικότητας, μας εμπνέουν, ωστόσο, για περαιτέρω έρευνες και μελέτες.

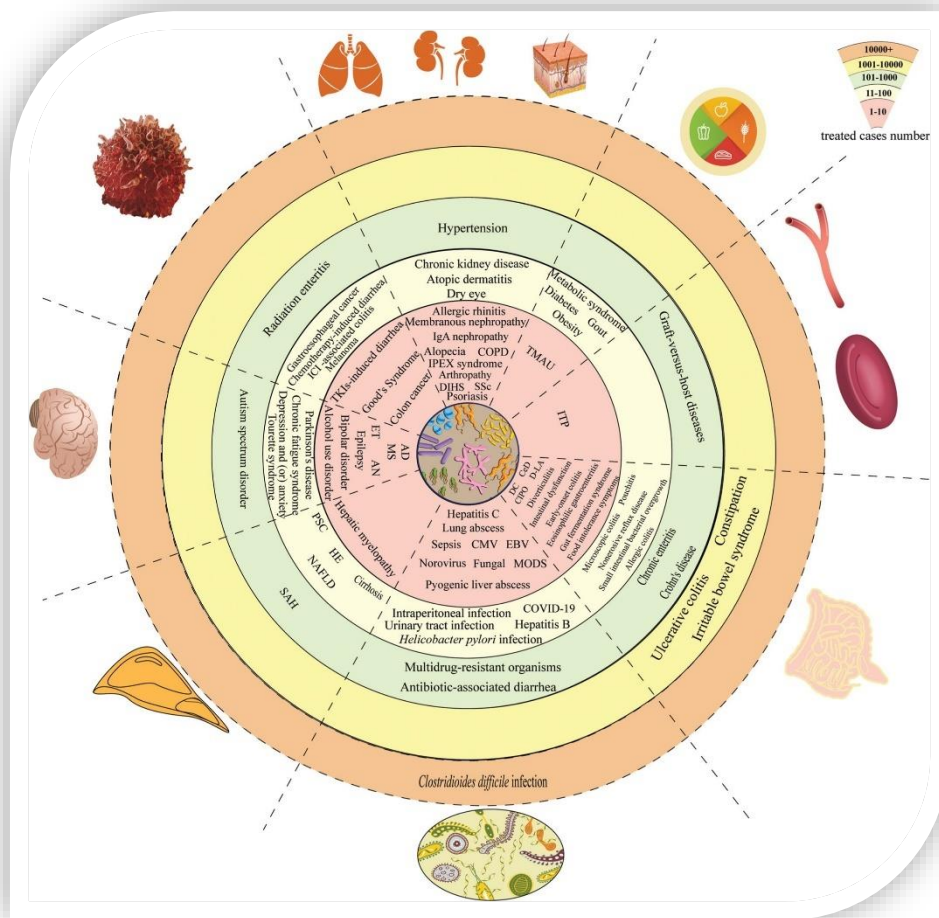
## 7.5 Μεταφορά Μικροβίων με Μεταμόσχευση Κοπράνων

Ένα βασικό χαρακτηριστικό της μικροχλωρίδας που την καθιστά λειτουργική και ωφέλιμη για τον οργανισμό φαίνεται πως αποτελεί η ποικιλομορφία της. Σε άτομα με μειωμένη βακτηριακή ποικιλομορφία στο έντερο μπορούμε να επέμβουμε και να την εμπλουτίσουμε με τη βοήθεια της FMT. Στην περίπτωση αυτή, τα κόπρανα ενός υγιούς δότη ελέγχονται και μεταφέρονται με ελάχιστη επεξεργασία σε έναν ασθενή με σκοπό την αλλαγή της σύνθεσης και την αύξηση των βακτηριακών ειδών της μικροχλωρίδας. Η χρήση αυτής της μεθόδου δείχνει να έχει αποτέλεσμα στη λοίμωξη από *Clostridioides difficile*, ενώ αποτελεσματική αποδεικνύεται πως είναι και σε περιπτώσεις με IBS και IBD (D. Goldenberg & Merrick, 2021).

Η FMT μπορεί να χορηγηθεί δίνοντας παρόμοια επιτυχή αποτελέσματα με διάφορους τρόπους όπως είναι η κολονοσκόπηση, ο ρινογαστρικός σωλήνας, ο ρινοδωδεκαδακτυλικός σωλήνας, το κλύσμα κ.α. Διαφορετικά αποτελέσματα μπορούν να προκύψουν από την προέλευση του δείγματος προς μεταμόσχευση. Παίζει σημαντικό ρόλο εάν αυτό είναι φρέσκο ή κατεψυγμένο ή αν προέρχεται από συγγενή. Και σε αυτή την περίπτωση βρίσκουμε έρευνες οι οποίες δίνουν αντιφατικά αποτελέσματα σχετικά με το αν η FMT προκαλεί βελτίωση των συμπτωμάτων μιας νόσου ή όχι. Οι διαφορετικές ερευνητικές προσεγγίσεις σχετικά με τη μεταμόσχευση κοπράνων ίσως να οφείλονται στην ετερογένεια που παρουσιάζουν οι νόσοι του εντέρου. Επίσης, ο τρόπος εισόδου του δείγματος κοπράνων μελετάται ως μία ακόμη αιτιολογία της παρουσίας διαφορετικών απόψεων σχετικά με τα αποτελέσματα της θεραπείας (Hillestad et al., 2022).

Για να θεωρηθεί επιτυχής η FMT στην αντιμετώπιση των ασθενειών θα πρέπει τα βακτήρια που μεταφέρονται να αποικίσουν το μικροβίωμα του ξενιστή και να παραμείνουν σε αυτό τόσο χρονικά όσο και ποσοτικά. Η διάρκεια δράσης και ο αριθμός των αποικιών τους βοηθάει στο να μπορέσει να αξιολογηθεί το κλινικό τους όφελος στον ασθενή. Σε μία μελέτη 12 ασθενών όπου χρησιμοποιήθηκε η αλληλούχιση 16s στα κόπρανα έπειτα από FMT παρατηρήθηκε πως η διαδικασία αυτή επηρέασε το μικροβίωμα του δέκτη μεταβάλλοντας τις ισορροπίες μεταξύ των βακτηριακών αποικιών. Επιπλέον τα χορηγούμενα βακτήρια μετέφεραν τις ευεργετικές τους λειτουργίες στο νέο περιβάλλον στο οποίο παρατηρήθηκε και η μεταφορά αντοχής στα αντιβιοτικά και τους λοιμογόνους παράγοντες (N. D. Chu et al., 2021).





Εικόνα 22. Τα πλεονεκτήματα της μεταφοράς μικροβίων κοπράνων.

Μία πρακτική λύση για την θεραπεία του IBS αποτελούν οι κάψουλες FMT. Οι κάψουλες αυτές περιλαμβάνουν φρέσκο διάλυμα κοπράνων του δότη που ύστερα από φυγοκέντρηση υφίστανται λυοφιλίωση και έπειτα το δείγμα τοποθετείται σε ανθεκτική στα οξέα υδροπροπυλομεθυλοκυτταρίνη. Οι κάψουλες αυτές μπορούν να χορηγηθούν πολύ πιο εύκολα από ότι με την ενδοσκόπηση ακόμη και από τον ίδιο τον ασθενή (Cui et al., 2021). Σε διάφορες μελέτες με FMT τα θεραπευτικά αποτελέσματα ήταν εμφανή για διάστημα περίπου ενός έτους. Έπειτα οι βελτιώσεις στη μικροχλωρίδα μειώνονταν και ο ασθενής έπρεπε να επαναλάβει τη χορηγούμενη δόση FMT.

Αν και πολλές από τις πτυχές της αλληλεπίδρασης της μικροχλωρίδας με τον ξενιστή δεν είναι πλήρως κατανοητές, ορισμένα χαρακτηριστικά των γαστρεντερικών διαταραχών φαίνεται πως έχουν άμεση επίδραση στο ανοσοποιητικό σύστημα. Η ακεραιότητα του εντέρου και ο εντερικός φραγμός είναι τομείς που απαιτούν περαιτέρω μελέτη και έρευνα ώστε να προχωρήσουμε στην θεραπεία των νόσων.

## Συνοψίζοντας...

Σήμερα, η γνώση μας πάνω στις λειτουργικές γαστρεντερικές διαταραχές μας έχει στρέψει να ερευνήσουμε και να προσπαθήσουμε να κατανοήσουμε τον τρόπο που ενεργεί ο άξονας εντέρου-εγκεφάλου. Ο διάυλος αυτών των δύο οργάνων, δρώντας αμοιβαία και αμφίδρομα, δείχνει να συμμετέχει σε μία πληθώρα αντιδράσεων, η διαταραχή των οποίων μεταβάλλει την ομοιόσταση του οργανισμού. Οι σύγχρονες μέθοδοι ανάλυσης του γενετικού υλικού έχουν ορίσει την εντερική μικροχλωρίδα ως την αφετηρία για την πλειονότητα αυτών των διαταραχών. Η μικροβιακή δυσβολία εκπέμπει ένα πλήθος αλλαγών από τα βακτηριακά της κύτταρα, που μέσω νευροδιαβιβαστών και σημάτων φτάνουν έως και τον εγκέφαλο. Τα εγκεφαλικά κύτταρα ανταποκρίνονται σε αυτές τις μεταβολές προκαλώντας τις αντίστοιχες παθήσεις. Πολύ σοβαρές ασθένειες που αφορούν τη σημερινή κοινωνία δείχνουν να επηρεάζονται άμεσα ή έμμεσα από τη γαστρεντερική λειτουργία.

Η μικροχλωρίδα του εντέρου βρίσκεται στο επίκεντρο της έρευνας με σκοπό την ανάδειξη βιοδεικτών, οι οποίοι θα μας βοηθήσουν στη διάγνωση και στη θεραπεία. Αν και οι περισσότερες έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί σε πειραματόζωα, όλο και περισσότερες ανακαλύψεις βρίσκουν εφαρμογή και στον άνθρωπο. Διάφορες μέθοδοι, όπως τα προβιοτικά και η μεταμόσχευση μικροβίων κοπράνων, μας έχουν επιτρέψει να επέμβουμε και να τροποποιήσουμε μια διαταραγμένη μικροχλωρίδα με σκοπό την αποκατάσταση της ομοιόστασης της. Στόχος των ερευνητών, πέρα από τον ορισμό των βιοδεικτών, είναι να διευκρινιστεί εάν οι παρατηρούμενες μικροβιακές αλλοιώσεις της μικροχλωρίδας αποτελούν αίτιο ή αποτέλεσμα των γαστρεντερικών και εγκεφαλικών παθήσεων, καθώς η συσχέτισή τους αποδεικνύεται όλο και πιο εξαρτώμενη.

## Αναφορές

- Aagaard, K., Ma, J., Antony, K. M., Ganu, R., Petrosino, J., & Versalovic, J. (2014). The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Science Translational Medicine*, *6*(237). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599>
- Adlerberth, I., & Wold, A. (2009). Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatrica*, *98*(2), 229–238. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2008.01060.x>
- Agus, A., Planchais, J., & Sokol, H. (2018). Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. *Cell Host & Microbe*, *23*(6), 716–724. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.05.003>
- Akira, S., & Hemmi, H. (2003). Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. *Immunology Letters*, *85*(2), 85–95. [https://doi.org/10.1016/S0165-2478\(02\)00228-6](https://doi.org/10.1016/S0165-2478(02)00228-6)
- Albenberg, L. G., & Wu, G. D. (2014). Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease. *Gastroenterology*, *146*(6), 1564–1572. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.058>
- Artis, D. (2008). Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nature Reviews Immunology*, *8*(6), 411–420. <https://doi.org/10.1038/nri2316>
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., Fernandes, G. R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J.-M., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., ... Bork, P. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, *473*(7346), 174–180. <https://doi.org/10.1038/nature09944>
- Asadi, A., Shadab Mehr, N., Mohamadi, M. H., Shokri, F., Heidary, M., Sadeghifard, N., & Khoshnood, S. (2022). Obesity and gut–microbiota–brain axis: A narrative review. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, *36*(5). <https://doi.org/10.1002/jcla.24420>
- Assas, B. M., Miyan, J. A., & Pennock, J. L. (2014). Cross-talk between neural and immune receptors provides a potential mechanism of homeostatic regulation in the gut mucosa. *Mucosal Immunology*, *7*(6), 1283–1289. <https://doi.org/10.1038/mi.2014.80>
- Bäckhed, F., Roswall, J., Peng, Y., Feng, Q., Jia, H., Kovatcheva-Datchary, P., Li, Y., Xia, Y., Xie, H., Zhong, H., Khan, M. T., Zhang, J., Li, J., Xiao, L., Al-Aama, J., Zhang, D., Lee, Y. S., Kotowska, D., Colding, C., ... Wang, J. (2015). Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host & Microbe*, *17*(5), 690–703. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.04.004>
- Bagel, S., Hüllen, V., Wiedemann, B., & Heisig, P. (1999). Impact of gyrA and parC mutations on quinolone resistance, doubling time, and supercoiling degree of

- Escherichia coli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(4), 868–875.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.43.4.868>
- Banks, W. A. (1980). Evidence for a cholecystokinin gut-brain axis with modulation by bombesin. *Peptides*, 1(4), 347–351. [https://doi.org/10.1016/0196-9781\(80\)90013-3](https://doi.org/10.1016/0196-9781(80)90013-3)
- Bashashati, M., Moradi, M., & Sarosiek, I. (2017). Interleukin-6 in irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analysis of IL-6 (-G174C) and circulating IL-6 levels. *Cytokine*, 99, 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.08.017>
- BASS, N. M. (2007). Review article: the current pharmacological therapies for hepatic encephalopathy. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 25, 23–31.  
<https://doi.org/10.1111/j.1746-6342.2006.03218.x>
- Bednarska, O., Walter, S. A., Casado-Bedmar, M., Ström, M., Salvo-Romero, E., Vicario, M., Mayer, E. A., & Keita, Å. V. (2017). Vasoactive Intestinal Polypeptide and Mast Cells Regulate Increased Passage of Colonic Bacteria in Patients With Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology*, 153(4), 948-960.e3.  
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.06.051>
- Benedict, C., Vogel, H., Jonas, W., Woting, A., Blaut, M., Schürmann, A., & Cedernaes, J. (2016). Gut microbiota and glucometabolic alterations in response to recurrent partial sleep deprivation in normal-weight young individuals. *Molecular Metabolism*, 5(12), 1175–1186. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.10.003>
- Ben-Menachem, E. (2001). Vagus Nerve Stimulation, Side Effects, and Long-Term Safety. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 18(5), 415–418.  
<https://doi.org/10.1097/00004691-200109000-00005>
- Bennel, R., & Nord, C. E. (1987). Development of the faecal anaerobic microflora after Caesarean section and treatment with antibiotics in newborn infants. *Infection*, 15(5), 332–336. <https://doi.org/10.1007/BF01647733>
- Bennet, S. M. P., Polster, A., Törnblom, H., Isaksson, S., Capronnier, S., Tessier, A., Le Névé, B., Simrén, M., & Öhman, L. (2016). Global Cytokine Profiles and Association With Clinical Characteristics in Patients With Irritable Bowel Syndrome. *American Journal of Gastroenterology*, 111(8), 1165–1176.  
<https://doi.org/10.1038/ajg.2016.223>
- Bercik, P., Collins, S. M., & Verdu, E. F. (2012). Microbes and the gut-brain axis. *Neurogastroenterology & Motility*, 24(5), 405–413. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2012.01906.x>
- Bercik, P., Denou, E., Collins, J., Jackson, W., Lu, J., Jury, J., Deng, Y., Blennerhassett, P., Macri, J., McCoy, K. D., Verdu, E. F., & Collins, S. M. (2011). The Intestinal Microbiota Affect Central Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Behavior in Mice. *Gastroenterology*, 141(2), 599-609.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.04.052>

- Berg, R. (1996). The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends in Microbiology*, 4(11), 430–435. [https://doi.org/10.1016/0966-842X\(96\)10057-3](https://doi.org/10.1016/0966-842X(96)10057-3)
- Berger, M., Gray, J. A., & Roth, B. L. (2009). The Expanded Biology of Serotonin. *Annual Review of Medicine*, 60(1), 355–366. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.60.042307.110802>
- Berthoud, H.-R., Albaugh, V. L., & Neuhuber, W. L. (2021). Gut-brain communication and obesity: understanding functions of the vagus nerve. *Journal of Clinical Investigation*, 131(10). <https://doi.org/10.1172/JCI143770>
- Biteen, J. S., Blainey, P. C., Cardon, Z. G., Chun, M., Church, G. M., Dorrestein, P. C., Fraser, S. E., Gilbert, J. A., Jansson, J. K., Knight, R., Miller, J. F., Ozcan, A., Prather, K. A., Quake, S. R., Ruby, E. G., Silver, P. A., Taha, S., van den Engh, G., Weiss, P. S., ... Young, T. D. (2016). Tools for the Microbiome: Nano and Beyond. *ACS Nano*, 10(1), 6–37. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b07826>
- Blennow, K., & Zetterberg, H. (2018). Biomarkers for Alzheimer’s disease: current status and prospects for the future. *Journal of Internal Medicine*, 284(6), 643–663. <https://doi.org/10.1111/joim.12816>
- Bonaz, B., Bazin, T., & Pellissier, S. (2018a). The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Frontiers in Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00049>
- Bonaz, B., Bazin, T., & Pellissier, S. (2018b). The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Frontiers in Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00049>
- Bonaz, B., Bazin, T., & Pellissier, S. (2018c). The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Frontiers in Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00049>
- Borovikova, L. V., Ivanova, S., Zhang, M., Yang, H., Botchkina, G. I., Watkins, L. R., Wang, H., Abumrad, N., Eaton, J. W., & Tracey, K. J. (2000). Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, 405(6785), 458–462. <https://doi.org/10.1038/35013070>
- Bove, C., & Travagli, R. A. (2019). Neurophysiology of the brain stem in Parkinson’s disease. *Journal of Neurophysiology*, 121(5), 1856–1864. <https://doi.org/10.1152/jn.00056.2019>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., & Holmes, S. P. (2017). Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME Journal*, 11(12), 2639–2643. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>
- Candela, M., Perna, F., Carnevali, P., Vitali, B., Ciati, R., Gionchetti, P., Rizzello, F., Campieri, M., & Brigidi, P. (2008). Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: Adhesion properties,

- competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production. *International Journal of Food Microbiology*, 125(3), 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.012>
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Costello, E. K., Berg-Lyons, D., Gonzalez, A., Stombaugh, J., Knights, D., Gajer, P., Ravel, J., Fierer, N., Gordon, J. I., & Knight, R. (2011). Moving pictures of the human microbiome. *Genome Biology*, 12(5), R50. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-5-r50>
- Castillo-Armengol, J., Fajas, L., & Lopez-Mejia, I. C. (2019). Inter-organ communication: a gatekeeper for metabolic health. *EMBO Reports*, 20(9). <https://doi.org/10.15252/embr.201947903>
- Cattaneo, A., Cattane, N., Galluzzi, S., Provasi, S., Lopizzo, N., Festari, C., Ferrari, C., Guerra, U. P., Paghera, B., Muscio, C., Bianchetti, A., Volta, G. D., Turla, M., Cotelli, M. S., Gennuso, M., Prele, A., Zanetti, O., Lussignoli, G., Mirabile, D., ... Frisoni, G. B. (2017). Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. *Neurobiology of Aging*, 49, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.08.019>
- Chang, L., Wei, Y., & Hashimoto, K. (2022a). Brain–gut–microbiota axis in depression: A historical overview and future directions. *Brain Research Bulletin*, 182, 44–56. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.02.004>
- Chang, L., Wei, Y., & Hashimoto, K. (2022b). Brain–gut–microbiota axis in depression: A historical overview and future directions. *Brain Research Bulletin*, 182, 44–56. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.02.004>
- Chapman, M. R., Robinson, L. S., Pinkner, J. S., Roth, R., Heuser, J., Hammar, M., Normark, S., & Hultgren, S. J. (2002). Role of *Escherichia coli* Curli Operons in Directing Amyloid Fiber Formation. *Science*, 295(5556), 851–855. <https://doi.org/10.1126/science.1067484>
- Chartier, S., & Duyckaerts, C. (2018). Is Lewy pathology in the human nervous system chiefly an indicator of neuronal protection or of toxicity? *Cell and Tissue Research*, 373(1), 149–160. <https://doi.org/10.1007/s00441-018-2854-6>
- Chichlowski, M., De Lartigue, G., German, J. B., Raybould, H. E., & Mills, D. A. (2012). Bifidobacteria isolated from infants and cultured on human milk oligosaccharides affect intestinal epithelial function. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 55(3), 321–327. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31824fb899>
- Chu, D. M., Antony, K. M., Ma, J., Prince, A. L., Showalter, L., Moller, M., & Aagaard, K. M. (2016). The early infant gut microbiome varies in association with a maternal high-fat diet. *Genome Medicine*, 8(1), 77. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0330-z>
- Chu, N. D., Crothers, J. W., Nguyen, L. T. T., Kearney, S. M., Smith, M. B., Kassam, Z., Collins, C., Xavier, R., Moses, P. L., & Alm, E. J. (2021). Dynamic Colonization of

- Microbes and Their Functions after Fecal Microbiota Transplantation for Inflammatory Bowel Disease. *MBio*, 12(4). <https://doi.org/10.1128/mBio.00975-21>
- Chung, H., Pamp, S. J., Hill, J. A., Surana, N. K., Edelman, S. M., Troy, E. B., Reading, N. C., Villablanca, E. J., Wang, S., Mora, J. R., Umesaki, Y., Mathis, D., Benoist, C., Relman, D. A., & Kasper, D. L. (2012). Gut immune maturation depends on colonization with a host-specific microbiota. *Cell*, 149(7), 1578–1593. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.04.037>
- Claesson, M. J., Cusack, S., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., de Weerd, H., Flannery, E., Marchesi, J. R., Falush, D., Dinan, T., Fitzgerald, G., Stanton, C., van Sinderen, D., O'Connor, M., Harnedy, N., O'Connor, K., Henry, C., O'Mahony, D., Fitzgerald, A. P., Shanahan, F., ... O'Toole, P. W. (2011a). Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(supplement\_1), 4586–4591. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000097107>
- Claesson, M. J., Cusack, S., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., de Weerd, H., Flannery, E., Marchesi, J. R., Falush, D., Dinan, T., Fitzgerald, G., Stanton, C., van Sinderen, D., O'Connor, M., Harnedy, N., O'Connor, K., Henry, C., O'Mahony, D., Fitzgerald, A. P., Shanahan, F., ... O'Toole, P. W. (2011b). Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(supplement\_1), 4586–4591. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000097107>
- Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R. D., Shanahan, F., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2013a). The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular Psychiatry*, 18(6), 666–673. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.77>
- Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R. D., Shanahan, F., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2013b). The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular Psychiatry*, 18(6), 666–673. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.77>
- Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R. D., Shanahan, F., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2013c). The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular Psychiatry*, 18(6), 666–673. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.77>
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258–1270. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.035>
- Cook, M. D., Allen, J. M., Pence, B. D., Wallig, M. A., Gaskins, H. R., White, B. A., & Woods, J. A. (2016). Exercise and gut immune function: evidence of alterations in colon immune cell homeostasis and microbiome characteristics with exercise training. *Immunology & Cell Biology*, 94(2), 158–163. <https://doi.org/10.1038/icb.2015.108>

- Coppa, G. V, Bruni, S., Morelli, L., Soldi, S., & Gabrielli, O. (2004). The First Prebiotics in Humans. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 38(Supplement 2), S80–S83. <https://doi.org/10.1097/01.mcg.0000128926.14285.25>
- Critchfield, J. W., van Hemert, S., Ash, M., Mulder, L., & Ashwood, P. (2011). The Potential Role of Probiotics in the Management of Childhood Autism Spectrum Disorders. *Gastroenterology Research and Practice*, 2011, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2011/161358>
- Cui, J., Lin, Z., Tian, H., Yang, B., Zhao, D., Ye, C., Li, N., Qin, H., & Chen, Q. (2021). Long-Term Follow-Up Results of Fecal Microbiota Transplantation for Irritable Bowel Syndrome: A Single-Center, Retrospective Study. *Frontiers in Medicine*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.710452>
- Cussotto, S., Clarke, G., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2019). Psychotropics and the Microbiome: a Chamber of Secrets.... *Psychopharmacology*, 236(5), 1411–1432. <https://doi.org/10.1007/s00213-019-5185-8>
- D. Goldenberg, S., & Merrick, B. (2021). The role of faecal microbiota transplantation: looking beyond *Clostridioides difficile* infection. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 8, 204993612098152. <https://doi.org/10.1177/2049936120981526>
- David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., Ling, A. V., Devlin, A. S., Varma, Y., Fischbach, M. A., Biddinger, S. B., Dutton, R. J., & Turnbaugh, P. J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559–563. <https://doi.org/10.1038/nature12820>
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., & Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(33), 14691–14696. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005963107>
- de Kivit, S., Tobin, M. C., Forsyth, C. B., Keshavarzian, A., & Landay, A. L. (2014). Regulation of Intestinal Immune Responses through TLR Activation: Implications for Pro- and Prebiotics. *Frontiers in Immunology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00060>
- De Vadder, F., Grasset, E., Mannerås Holm, L., Karsenty, G., Macpherson, A. J., Olofsson, L. E., & Bäckhed, F. (2018). Gut microbiota regulates maturation of the adult enteric nervous system via enteric serotonin networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(25), 6458–6463. <https://doi.org/10.1073/pnas.1720017115>
- de Weerth, C. (2017). Do bacteria shape our development? Crosstalk between intestinal microbiota and HPA axis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 83, 458–471. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.09.016>



- Dethlefsen, L., & Relman, D. A. (2011). Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108 Suppl 1*(Suppl 1), 4554–4561. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000087107>
- DiGiulio, D. B., Romero, R., Amogan, H. P., Kusanovic, J. P., Bik, E. M., Gotsch, F., Kim, C. J., Erez, O., Edwin, S., & Relman, D. A. (2008). Microbial Prevalence, Diversity and Abundance in Amniotic Fluid During Preterm Labor: A Molecular and Culture-Based Investigation. *PLoS ONE*, *3*(8), e3056. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003056>
- Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(26), 11971–11975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>
- Doroszkiwicz, J., Groblewska, M., & Mroczko, B. (2021a). The Role of Gut Microbiota and Gut–Brain Interplay in Selected Diseases of the Central Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(18), 10028. <https://doi.org/10.3390/ijms221810028>
- Doroszkiwicz, J., Groblewska, M., & Mroczko, B. (2021b). The Role of Gut Microbiota and Gut–Brain Interplay in Selected Diseases of the Central Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(18), 10028. <https://doi.org/10.3390/ijms221810028>
- Doroszkiwicz, J., Groblewska, M., & Mroczko, B. (2021c). The Role of Gut Microbiota and Gut–Brain Interplay in Selected Diseases of the Central Nervous System. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(18), 10028. <https://doi.org/10.3390/ijms221810028>
- Drossman, D. A. (1998). Gastrointestinal Illness and the Biopsychosocial Model. *Psychosomatic Medicine*, *60*(3), 258–267. <https://doi.org/10.1097/00006842-199805000-00007>
- Drossman, D. A. (2005). Functional GI Disorders: What’s in a Name? *Gastroenterology*, *128*(7), 1771–1772. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.04.020>
- Drossman, D. A. (2016). Functional Gastrointestinal Disorders: History, Pathophysiology, Clinical Features, and Rome IV. *Gastroenterology*, *150*(6), 1262–1279.e2. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.02.032>
- Eggesbø, M., Botten, G., Stigum, H., Nafstad, P., & Magnus, P. (2003). Is delivery by cesarean section a risk factor for food allergy? *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *112*(2), 420–426. <https://doi.org/10.1067/mai.2003.1610>
- ENGEL, G. L. (1978). Psychologic Stress, Vasodepressor (Vasovagal) Syncope, and Sudden Death. *Annals of Internal Medicine*, *89*(3), 403. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-89-3-403>

- Erny, D., Hrabě de Angelis, A. L., Jaitin, D., Wieghofer, P., Staszewski, O., David, E., Keren-Shaul, H., Mhlahoi, T., Jakobshagen, K., Buch, T., Schwierzeck, V., Utermöhlen, O., Chun, E., Garrett, W. S., McCoy, K. D., Diefenbach, A., Staeheli, P., Stecher, B., Amit, I., & Prinz, M. (2015). Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature Neuroscience*, *18*(7), 965–977. <https://doi.org/10.1038/nn.4030>
- Fallani, M., Young, D., Scott, J., Norin, E., Amarri, S., Adam, R., Aguilera, M., Khanna, S., Gil, A., Edwards, C. A., & Doré, J. (2010). Intestinal Microbiota of 6-week-old Infants Across Europe: Geographic Influence Beyond Delivery Mode, Breast-feeding, and Antibiotics. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, *51*(1), 77–84. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181d1b11e>
- Fanaro, S., Chierici, R., Guerrini, P., & Vigi, V. (2007). Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatrica*, *92*, 48–55. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2003.tb00646.x>
- Flint, H. J., Scott, K. P., Louis, P., & Duncan, S. H. (2012). The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *9*(10), 577–589. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.156>
- Fond, G., Loundou, A., Hamdani, N., Boukouaci, W., Dargel, A., Oliveira, J., Roger, M., Tamouza, R., Leboyer, M., & Boyer, L. (2014). Anxiety and depression comorbidities in irritable bowel syndrome (IBS): a systematic review and meta-analysis. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, *264*(8), 651–660. <https://doi.org/10.1007/s00406-014-0502-z>
- Ford, A. C., Sperber, A. D., Corsetti, M., & Camilleri, M. (2020). Irritable bowel syndrome. *The Lancet*, *396*(10263), 1675–1688. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31548-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31548-8)
- Frank, D. N., St. Amand, A. L., Feldman, R. A., Boedeker, E. C., Harpaz, N., & Pace, N. R. (2007a). Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(34), 13780–13785. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706625104>
- Frank, D. N., St. Amand, A. L., Feldman, R. A., Boedeker, E. C., Harpaz, N., & Pace, N. R. (2007b). Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(34), 13780–13785. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706625104>
- Furness, J. B., Rivera, L. R., Cho, H.-J., Bravo, D. M., & Callaghan, B. (2013). The gut as a sensory organ. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *10*(12), 729–740. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.180>

- Gao, B., Chi, L., Zhu, Y., Shi, X., Tu, P., Li, B., Yin, J., Gao, N., Shen, W., & Schnabl, B. (2021a). An Introduction to Next Generation Sequencing Bioinformatic Analysis in Gut Microbiome Studies. *Biomolecules*, *11*(4), 530. <https://doi.org/10.3390/biom11040530>
- Gao, B., Chi, L., Zhu, Y., Shi, X., Tu, P., Li, B., Yin, J., Gao, N., Shen, W., & Schnabl, B. (2021b). An Introduction to Next Generation Sequencing Bioinformatic Analysis in Gut Microbiome Studies. *Biomolecules*, *11*(4), 530. <https://doi.org/10.3390/biom11040530>
- Gardener, S., Gu, Y., Rainey-Smith, S. R., Keogh, J. B., Clifton, P. M., Mathieson, S. L., Taddei, K., Mondal, A., Ward, V. K., Scarmeas, N., Barnes, M., Ellis, K. A., Head, R., Masters, C. L., Ames, D., Macaulay, S. L., Rowe, C. C., Szoek, C., & Martins, R. N. (2012). Adherence to a Mediterranean diet and Alzheimer's disease risk in an Australian population. *Translational Psychiatry*, *2*(10), e164–e164. <https://doi.org/10.1038/tp.2012.91>
- Gaykema, R. P. A., Goehler, L. E., & Lyte, M. (2004). Brain response to cecal infection with *Campylobacter jejuni*: analysis with Fos immunohistochemistry. *Brain, Behavior, and Immunity*, *18*(3), 238–245. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2003.08.002>
- Gilbert, J. A., Blaser, M. J., Caporaso, J. G., Jansson, J. K., Lynch, S. V., & Knight, R. (2018). Current understanding of the human microbiome. *Nature Medicine*, *24*(4), 392–400. <https://doi.org/10.1038/nm.4517>
- Goehler, L. E., Park, S. M., Opitz, N., Lyte, M., & Gaykema, R. P. A. (2008). *Campylobacter jejuni* infection increases anxiety-like behavior in the holeboard: Possible anatomical substrates for viscerosensory modulation of exploratory behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*, *22*(3), 354–366. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2007.08.009>
- Gonzalez, A., Stombaugh, J., Lozupone, C., Turnbaugh, P. J., Gordon, J. I., & Knight, R. (2011). The mind-body-microbial continuum. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *13*(1), 55–62. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2011.13.1/agonzalez>
- Goodrich, J. K., Waters, J. L., Poole, A. C., Sutter, J. L., Koren, O., Blekhman, R., Beaumont, M., Van Treuren, W., Knight, R., Bell, J. T., Spector, T. D., Clark, A. G., & Ley, R. E. (2014). Human genetics shape the gut microbiome. *Cell*, *159*(4), 789–799. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.053>
- Goossens, H., Ferech, M., Vander Stichele, R., & Elseviers, M. (2005). Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *The Lancet*, *365*(9459), 579–587. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)17907-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17907-0)
- Góralczyk-Bińkowska, A., Szmajda-Krygier, D., & Kozłowska, E. (2022). The Microbiota–Gut–Brain Axis in Psychiatric Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(19), 11245. <https://doi.org/10.3390/ijms231911245>

- Gordon, H. A., & Pesti, L. (1971). The gnotobiotic animal as a tool in the study of host microbial relationships. *Bacteriological Reviews*, 35(4), 390–429. <https://doi.org/10.1128/br.35.4.390-429.1971>
- Grenham, S., Clarke, G., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2011). Brain-Gut-Microbe Communication in Health and Disease. *Frontiers in Physiology*, 2. <https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00094>
- Grice, E. A., & Segre, J. A. (2011). The skin microbiome. *Nature Reviews. Microbiology*, 9(4), 244–253. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2537>
- Guan, Q. (2019). A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Immunology Research*, 2019, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2019/7247238>
- Gubert, C., Kong, G., Renoir, T., & Hannan, A. J. (2020). Exercise, diet and stress as modulators of gut microbiota: Implications for neurodegenerative diseases. *Neurobiology of Disease*, 134, 104621. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104621>
- Heijtz, R. D., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Björkholm, B., Samuelsson, A., Hibberd, M. L., Forssberg, H., & Pettersson, S. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(7), 3047–3052. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010529108>
- Hillestad, E. M. R., van der Meeren, A., Nagaraja, B. H., Bjørsvik, B. R., Haleem, N., Benitez-Paez, A., Sanz, Y., Hausken, T., Lied, G. A., Lundervold, A., & Berentsen, B. (2022). Gut bless you: The microbiota-gut-brain axis in irritable bowel syndrome. *World Journal of Gastroenterology*, 28(4), 412–431. <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i4.412>
- Hooper, L. V., & Macpherson, A. J. (2010). Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews Immunology*, 10(3), 159–169. <https://doi.org/10.1038/nri2710>
- Hooper, L. V., Wong, M. H., Thelin, A., Hansson, L., Falk, P. G., & Gordon, J. I. (2001a). Molecular Analysis of Commensal Host-Microbial Relationships in the Intestine. *Science*, 291(5505), 881–884. <https://doi.org/10.1126/science.291.5505.881>
- Hooper, L. V., Wong, M. H., Thelin, A., Hansson, L., Falk, P. G., & Gordon, J. I. (2001b). Molecular Analysis of Commensal Host-Microbial Relationships in the Intestine. *Science*, 291(5505), 881–884. <https://doi.org/10.1126/science.291.5505.881>
- Hugerth, L. W., Andreasson, A., Talley, N. J., Forsberg, A. M., Kjellström, L., Schmidt, P. T., Agreus, L., & Engstrand, L. (2020). No distinct microbiome signature of irritable bowel syndrome found in a Swedish random population. *Gut*, 69(6), 1076–1084. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318717>
- Huh, S. Y., Rifas-Shiman, S. L., Zera, C. A., Edwards, J. W. R., Oken, E., Weiss, S. T., & Gillman, M. W. (2012). Delivery by caesarean section and risk of obesity in preschool

- age children: a prospective cohort study. *Archives of Disease in Childhood*, 97(7), 610–616. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2011-301141>
- Huurre, A., Kalliomäki, M., Rautava, S., Rinne, M., Salminen, S., & Isolauri, E. (2008). Mode of Delivery – Effects on Gut Microbiota and Humoral Immunity. *Neonatology*, 93(4), 236–240. <https://doi.org/10.1159/000111102>
- Ianiro, G., Tilg, H., & Gasbarrini, A. (2016). Antibiotics as deep modulators of gut microbiota: between good and evil. *Gut*, 65(11), 1906–1915. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-312297>
- Itoh, K., & Mitsuoka, T. (1985). Characterization of clostridia isolated from faeces of limited flora mice and their effect on caecal size when associated with germ-free mice. *Laboratory Animals*, 19(2), 111–118. <https://doi.org/10.1258/002367785780942589>
- Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., & Nageshwar Reddy, D. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology*, 21(29), 8787–8803. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787>
- Jašarević, E., Howard, C. D., Misic, A. M., Beiting, D. P., & Bale, T. L. (2017). Stress during pregnancy alters temporal and spatial dynamics of the maternal and offspring microbiome in a sex-specific manner. *Scientific Reports*, 7, 44182. <https://doi.org/10.1038/srep44182>
- Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C., & Jansson, J. K. (2007). Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *The ISME Journal*, 1(1), 56–66. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.3>
- Jiang, H., Ling, Z., Zhang, Y., Mao, H., Ma, Z., Yin, Y., Wang, W., Tang, W., Tan, Z., Shi, J., Li, L., & Ruan, B. (2015a). Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*, 48, 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.03.016>
- Jiang, H., Ling, Z., Zhang, Y., Mao, H., Ma, Z., Yin, Y., Wang, W., Tang, W., Tan, Z., Shi, J., Li, L., & Ruan, B. (2015b). Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*, 48, 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.03.016>
- Jiang, H.-Q., Thurnheer, M. C., Zuercher, A. W., Boiko, N. V., Bos, N. A., & Cebra, J. J. (2004). Interactions of commensal gut microbes with subsets of B- and T-cells in the murine host. *Vaccine*, 22(7), 805–811. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2003.11.022>
- Jones, m. p., dilley, j. b., drossman, d., & crowell, m. d. (2006). Brain-gut connections in functional GI disorders: anatomic and physiologic relationships. *Neurogastroenterology and Motility*, 18(2), 91–103. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2005.00730.x>

- Karakan, T., Ozkul, C., Küpeli Akkol, E., Bilici, S., Sobarzo-Sánchez, E., & Capasso, R. (2021). Gut-Brain-Microbiota Axis: Antibiotics and Functional Gastrointestinal Disorders. *Nutrients*, *13*(2), 389. <https://doi.org/10.3390/nu13020389>
- Kau, A. L., Ahern, P. P., Griffin, N. W., Goodman, A. L., & Gordon, J. I. (2011). Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*, *474*(7351), 327–336. <https://doi.org/10.1038/nature10213>
- Kennedy, E. A., King, K. Y., & Baldridge, M. T. (2018). Mouse Microbiota Models: Comparing Germ-Free Mice and Antibiotics Treatment as Tools for Modifying Gut Bacteria. *Frontiers in Physiology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01534>
- Khan, I., Ullah, N., Zha, L., Bai, Y., Khan, A., Zhao, T., Che, T., & Zhang, C. (2019). Alteration of Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cause or Consequence? IBD Treatment Targeting the Gut Microbiome. *Pathogens*, *8*(3), 126. <https://doi.org/10.3390/pathogens8030126>
- Kim, M.-S., Kim, Y., Choi, H., Kim, W., Park, S., Lee, D., Kim, D. K., Kim, H. J., Choi, H., Hyun, D.-W., Lee, J.-Y., Choi, E. Y., Lee, D.-S., Bae, J.-W., & Mook-Jung, I. (2020). Transfer of a healthy microbiota reduces amyloid and tau pathology in an Alzheimer's disease animal model. *Gut*, *69*(2), 283–294. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-317431>
- Kleerebezem, M., & Vaughan, E. E. (2009). Probiotic and Gut Lactobacilli and Bifidobacteria: Molecular Approaches to Study Diversity and Activity. *Annual Review of Microbiology*, *63*(1), 269–290. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073341>
- Koenig, J. E., Spor, A., Scalfone, N., Fricker, A. D., Stombaugh, J., Knight, R., Angenent, L. T., & Ley, R. E. (2011a). Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108* Suppl 1(Suppl 1), 4578–4585. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000081107>
- Koenig, J. E., Spor, A., Scalfone, N., Fricker, A. D., Stombaugh, J., Knight, R., Angenent, L. T., & Ley, R. E. (2011b). Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108* Suppl 1(Suppl 1), 4578–4585. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000081107>
- Kolmeder, C. A., de Been, M., Nikkilä, J., Ritamo, I., Mättö, J., Valmu, L., Salojärvi, J., Palva, A., Salonen, A., & de Vos, W. M. (2012). Comparative metaproteomics and diversity analysis of human intestinal microbiota testifies for its temporal stability and expression of core functions. *PLoS One*, *7*(1), e29913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029913>
- Kort, R., Caspers, M., van de Graaf, A., van Egmond, W., Keijser, B., & Roeselers, G. (2014). Shaping the oral microbiota through intimate kissing. *Microbiome*, *2*, 41. <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-41>

- Lacy, B., & Patel, N. (2017). Rome Criteria and a Diagnostic Approach to Irritable Bowel Syndrome. *Journal of Clinical Medicine*, *6*(11), 99. <https://doi.org/10.3390/jcm6110099>
- Lauder, A. P., Roche, A. M., Sherrill-Mix, S., Bailey, A., Laughlin, A. L., Bittinger, K., Leite, R., Elovitz, M. A., Parry, S., & Bushman, F. D. (2016). Comparison of placenta samples with contamination controls does not provide evidence for a distinct placenta microbiota. *Microbiome*, *4*(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0172-3>
- Lax, S., Smith, D. P., Hampton-Marcell, J., Owens, S. M., Handley, K. M., Scott, N. M., Gibbons, S. M., Larsen, P., Shogan, B. D., Weiss, S., Metcalf, J. L., Ursell, L. K., Vázquez-Baeza, Y., Van Treuren, W., Hasan, N. A., Gibson, M. K., Colwell, R., Dantas, G., Knight, R., & Gilbert, J. A. (2014). Longitudinal analysis of microbial interaction between humans and the indoor environment. *Science (New York, N.Y.)*, *345*(6200), 1048–1052. <https://doi.org/10.1126/science.1254529>
- Le Gall, G., Noor, S. O., Ridgway, K., Scovell, L., Jamieson, C., Johnson, I. T., Colquhoun, I. J., Kemsley, E. K., & Narbad, A. (2011). Metabolomics of Fecal Extracts Detects Altered Metabolic Activity of Gut Microbiota in Ulcerative Colitis and Irritable Bowel Syndrome. *Journal of Proteome Research*, *10*(9), 4208–4218. <https://doi.org/10.1021/pr2003598>
- Lee, C., Doo, E., Choi, J. M., Jang, S.-H., Ryu, H.-S., Lee, J. Y., Oh, J. H., Park, J. H., Kim, Y. S., & Brain-Gut Axis Research Group of Korean Society of Neurogastroenterology and Motility. (2017). The Increased Level of Depression and Anxiety in Irritable Bowel Syndrome Patients Compared with Healthy Controls: Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, *23*(3), 349–362. <https://doi.org/10.5056/jnm16220>
- Levy, G., Fishman, J. E., Xu, D., Chandler, B. T. J., Feketova, E., Dong, W., Qin, Y., Alli, V., Ulloa, L., & Deitch, E. A. (2013). PARASYMPATHETIC STIMULATION VIA THE VAGUS NERVE PREVENTS SYSTEMIC ORGAN DYSFUNCTION BY ABROGATING GUT INJURY AND LYMPH TOXICITY IN TRAUMA AND HEMORRHAGIC SHOCK. *Shock*, *39*(1), 39–44. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e31827b450d>
- Levy, R. L., Olden, K. W., Naliboff, B. D., Bradley, L. A., Francisconi, C., Drossman, D. A., & Creed, F. (2006). Psychosocial Aspects of the Functional Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology*, *130*(5), 1447–1458. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.11.057>
- Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S., & Gordon, J. I. (2006). Human gut microbes associated with obesity. *Nature*, *444*(7122), 1022–1023. <https://doi.org/10.1038/4441022a>
- Li, Y., Hao, Y., Zhu, J., & Owyang, C. (2000). Serotonin released from intestinal enterochromaffin cells mediates luminal non-cholecystokinin-stimulated pancreatic secretion in rats. *Gastroenterology*, *118*(6), 1197–1207. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(00\)70373-8](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(00)70373-8)

- Lipowski, Z. J. (1986). Psychosomatic Medicine: Past and Present Part I. Historical Background. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 31(1), 2–7. <https://doi.org/10.1177/070674378603100102>
- Lofmark, S., Jernberg, C., Jansson, J. K., & Edlund, C. (2006). Clindamycin-induced enrichment and long-term persistence of resistant *Bacteroides* spp. and resistance genes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(6), 1160–1167. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl420>
- Long, S. S., & Swenson, R. M. (1977a). Development of anaerobic fecal flora in healthy newborn infants. *The Journal of Pediatrics*, 91(2), 298–301. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(77\)80836-6](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(77)80836-6)
- Long, S. S., & Swenson, R. M. (1977b). Development of anaerobic fecal flora in healthy newborn infants. *The Journal of Pediatrics*, 91(2), 298–301. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(77\)80836-6](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(77)80836-6)
- Loo, J. Van, Clune, Y., Bennett, M., & Collins, J. K. (2005). The SYNCAN project: goals, set-up, first results and settings of the human intervention study. *British Journal of Nutrition*, 93(S1), S91–S98. <https://doi.org/10.1079/BJN20041353>
- Luczynski, P., McVey Neufeld, K.-A., Oriach, C. S., Clarke, G., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2016a). Growing up in a Bubble: Using Germ-Free Animals to Assess the Influence of the Gut Microbiota on Brain and Behavior. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 19(8), pyw020. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw020>
- Luczynski, P., McVey Neufeld, K.-A., Oriach, C. S., Clarke, G., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2016b). Growing up in a Bubble: Using Germ-Free Animals to Assess the Influence of the Gut Microbiota on Brain and Behavior. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 19(8), pyw020. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw020>
- Lupton, J. R. (2004). Microbial Degradation Products Influence Colon Cancer Risk: the Butyrate Controversy. *The Journal of Nutrition*, 134(2), 479–482. <https://doi.org/10.1093/jn/134.2.479>
- Lyte, M. (2011). Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: Microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *BioEssays*, 33(8), 574–581. <https://doi.org/10.1002/bies.201100024>
- LYTE, M., LI, W., OPITZ, N., GAYKEMA, R., & GOEHLER, L. (2006). Induction of anxiety-like behavior in mice during the initial stages of infection with the agent of murine colonic hyperplasia *Citrobacter rodentium*. *Physiology & Behavior*, 89(3), 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.06.019>
- Lyte, M., Varcoe, J. J., & Bailey, M. T. (1998). Anxiogenic effect of subclinical bacterial infection in mice in the absence of overt immune activation. *Physiology & Behavior*, 65(1), 63–68. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(98\)00145-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(98)00145-0)



- Maharshak, N., Huh, E. Y., Paiboonrungruang, C., Shanahan, M., Thurlow, L., Herzog, J., Djukic, Z., Orlando, R., Pawlinski, R., Ellermann, M., Borst, L., Patel, S., Dotan, I., Sartor, R. B., & Carroll, I. M. (2015). Enterococcus faecalis Gelatinase Mediates Intestinal Permeability via Protease-Activated Receptor 2. *Infection and Immunity*, 83(7), 2762–2770. <https://doi.org/10.1128/IAI.00425-15>
- Manichanh, C., Reeder, J., Gibert, P., Varela, E., Llopis, M., Antolin, M., Guigo, R., Knight, R., & Guarner, F. (2010). Reshaping the gut microbiome with bacterial transplantation and antibiotic intake. *Genome Research*, 20(10), 1411–1419. <https://doi.org/10.1101/gr.107987.110>
- Margolis, K. G., Cryan, J. F., & Mayer, E. A. (2021a). The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. *Gastroenterology*, 160(5), 1486–1501. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.10.066>
- Margolis, K. G., Cryan, J. F., & Mayer, E. A. (2021b). The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. *Gastroenterology*, 160(5), 1486–1501. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.10.066>
- Margolis, K. G., Gershon, M. D., & Bogunovic, M. (2016). Cellular Organization of Neuroimmune Interactions in the Gastrointestinal Tract. *Trends in Immunology*, 37(7), 487–501. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.05.003>
- Mayer, E. A. (2011). Gut feelings: the emerging biology of gut–brain communication. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(8), 453–466. <https://doi.org/10.1038/nrn3071>
- Mayer, E. A., Labus, J. S., Tillisch, K., Cole, S. W., & Baldi, P. (2015). Towards a systems view of IBS. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 12(10), 592–605. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.121>
- Mayer, E. A., Naliboff, B. D., Chang, L., & Coutinho, S. V. (2001). V. Stress and irritable bowel syndrome. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 280(4), G519–G524. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.2001.280.4.G519>
- Mcburney, W. T. (1999). Perturbation of the enterobacterial microflora detected by molecular analysis. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 11(3), 175–179. <https://doi.org/10.1080/089106099435763>
- Mehdi, S. (2010). Antibiotic-induced psychosis: A link to d-alanine? *Medical Hypotheses*, 75(6), 676–677. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2010.07.021>
- Messaoudi, M., Violle, N., Bisson, J.-F., Desor, D., Javelot, H., & Rougeot, C. (2011). Beneficial psychological effects of a probiotic formulation ( *Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. *Gut Microbes*, 2(4), 256–261. <https://doi.org/10.4161/gmic.2.4.16108>
- Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turrone, F., Mahony, J., Belzer, C., Delgado Palacio, S., Arbolea Montes, S., Mancabelli, L., Lugli, G. A., Rodriguez, J. M., Bode, L., de Vos, W., Gueimonde, M., Margolles, A., van Sinderen, D., & Ventura, M. (2017).

The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(4). <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-17>

- Miller, J. R., Koren, S., & Sutton, G. (2010). Assembly algorithms for next-generation sequencing data. *Genomics*, 95(6), 315–327. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2010.03.001>
- Misiak, B., Łoniewski, I., Marlicz, W., Frydecka, D., Szulc, A., Rudzki, L., & Samochowiec, J. (2020). The HPA axis dysregulation in severe mental illness: Can we shift the blame to gut microbiota? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 102, 109951. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109951>
- Modi, S. R., Collins, J. J., & Relman, D. A. (2014). Antibiotics and the gut microbiota. *The Journal of Clinical Investigation*, 124(10), 4212–4218. <https://doi.org/10.1172/JCI72333>
- Molina-Torres, G., Rodriguez-Arrastia, M., Roman, P., Sanchez-Labraca, N., & Cardona, D. (2019). Stress and the gut microbiota-brain axis. *Behavioural Pharmacology*, 30(2 and 3), 187–200. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000478>
- Mukhtar, K., Nawaz, H., & Abid, S. (2019). Functional gastrointestinal disorders and gut-brain axis: What does the future hold? *World Journal of Gastroenterology*, 25(5), 552–566. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i5.552>
- Olszak, T., An, D., Zeissig, S., Vera, M. P., Richter, J., Franke, A., Glickman, J. N., Siebert, R., Baron, R. M., Kasper, D. L., & Blumberg, R. S. (2012). Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science (New York, N.Y.)*, 336(6080), 489–493. <https://doi.org/10.1126/science.1219328>
- O'Mahony, S. M., Hyland, N. P., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2011). Maternal separation as a model of brain–gut axis dysfunction. *Psychopharmacology*, 214(1), 71–88. <https://doi.org/10.1007/s00213-010-2010-9>
- Orbell, S., Schneider, H., Esbitt, S., Gonzalez, J. S., Gonzalez, J. S., Shreck, E., Batchelder, A., Gidron, Y., Pressman, S. D., Hooker, E. D., Wiebe, D. J., Rinehart, D., Hayman, L. L., Meneghini, L., Kikuchi, H., Kikuchi, H., Desouky, T. F., McAndrew, L. M., Mora, P. A., ... Turner, J. R. (2013). Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. In *Encyclopedia of Behavioral Medicine* (pp. 1017–1018). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1005-9\\_460](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1005-9_460)
- Pajares, M., I. Rojo, A., Manda, G., Boscá, L., & Cuadrado, A. (2020). Inflammation in Parkinson's Disease: Mechanisms and Therapeutic Implications. *Cells*, 9(7), 1687. <https://doi.org/10.3390/cells9071687>
- Palmer, C., Bik, E. M., DiGiulio, D. B., Relman, D. A., & Brown, P. O. (2007). Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biology*, 5(7), e177. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050177>

- Pandey, Kavita. R., Naik, Suresh. R., & Vakil, Babu. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7577–7587. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1921-1>
- Park, S.-H., Lee, J. H., Shin, J., Kim, J.-S., Cha, B., Lee, S., Kwon, K. S., Shin, Y. W., & Choi, S. H. (2021). Cognitive function improvement after fecal microbiota transplantation in Alzheimer’s dementia patient: a case report. *Current Medical Research and Opinion*, 37(10), 1739–1744. <https://doi.org/10.1080/03007995.2021.1957807>
- Parracho, H. M., Bingham, M. O., Gibson, G. R., & McCartney, A. L. (2005). Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *Journal of Medical Microbiology*, 54(10), 987–991. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46101-0>
- Peng, Z., Ling, L., Stratton, C. W., Li, C., Polage, C. R., Wu, B., & Tang, Y.-W. (2018). Advances in the diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* infections. *Emerging Microbes & Infections*, 7(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41426-017-0019-4>
- Perez-Burgos, A., Wang, B., Mao, Y.-K., Mistry, B., Neufeld, K.-A. M., Bienenstock, J., & Kunze, W. (2013). Psychoactive bacteria *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) elicits rapid frequency facilitation in vagal afferents. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 304(2), G211–G220. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00128.2012>
- Perez-Muñoz, M. E., Arrieta, M.-C., Ramer-Tait, A. E., & Walter, J. (2017a). A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*, 5(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0268-4>
- Perez-Muñoz, M. E., Arrieta, M.-C., Ramer-Tait, A. E., & Walter, J. (2017b). A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*, 5(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0268-4>
- Perry, R. J., Peng, L., Barry, N. A., Cline, G. W., Zhang, D., Cardone, R. L., Petersen, K. F., Kibbey, R. G., Goodman, A. L., & Shulman, G. I. (2016). Acetate mediates a microbiome–brain– $\beta$ -cell axis to promote metabolic syndrome. *Nature*, 534(7606), 213–217. <https://doi.org/10.1038/nature18309>
- Pittayanon, R., Lau, J. T., Yuan, Y., Leontiadis, G. I., Tse, F., Surette, M., & Moayyedi, P. (2019). Gut Microbiota in Patients With Irritable Bowel Syndrome—A Systematic Review. *Gastroenterology*, 157(1), 97–108. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.03.049>
- Posey, D. J., Kem, D. L., Swiezy, N. B., Sweeten, T. L., Wiegand, R. E., & McDougle, C. J. (2004). A Pilot Study of  $\alpha$ -Cycloserine in Subjects With Autistic Disorder. *American Journal of Psychiatry*, 161(11), 2115–2117. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.11.2115>

- Priori, D., Colombo, M., Clavenzani, P., Jansman, A. J. M., Lallès, J.-P., Trevisi, P., & Bosi, P. (2015). The Olfactory Receptor OR51E1 Is Present along the Gastrointestinal Tract of Pigs, Co-Localizes with Enteroendocrine Cells and Is Modulated by Intestinal Microbiota. *PLOS ONE*, *10*(6), e0129501. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129501>
- Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S., & Medzhitov, R. (2004). Recognition of Commensal Microflora by Toll-Like Receptors Is Required for Intestinal Homeostasis. *Cell*, *118*(2), 229–241. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.07.002>
- Raybould, H. E. (2010). Gut chemosensing: Interactions between gut endocrine cells and visceral afferents. *Autonomic Neuroscience*, *153*(1–2), 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2009.07.007>
- Reigstad, C. S., Salmons, C. E., Rainey, J. F., Szurszewski, J. H., Linden, D. R., Sonnenburg, J. L., Farrugia, G., & Kashyap, P. C. (2015). Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *29*(4), 1395–1403. <https://doi.org/10.1096/fj.14-259598>
- Ringel, Y., & Maharshak, N. (2013). Intestinal microbiota and immune function in the pathogenesis of irritable bowel syndrome. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, *305*(8), G529–G541. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00207.2012>
- Sajdel-Sulkowska, E. M. (2021). Neuropsychiatric Ramifications of COVID-19: Short-Chain Fatty Acid Deficiency and Disturbance of Microbiota-Gut-Brain Axis Signaling. *BioMed Research International*, *2021*, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2021/7880448>
- Salter, S. J., Cox, M. J., Turek, E. M., Calus, S. T., Cookson, W. O., Moffatt, M. F., Turner, P., Parkhill, J., Loman, N. J., & Walker, A. W. (2014). Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *BMC Biology*, *12*(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s12915-014-0087-z>
- Samuel, B. S., Shaito, A., Motoike, T., Rey, F. E., Backhed, F., Manchester, J. K., Hammer, R. E., Williams, S. C., Crowley, J., Yanagisawa, M., & Gordon, J. I. (2008). Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(43), 16767–16772. <https://doi.org/10.1073/pnas.0808567105>
- Sarkar, A., Lehto, S. M., Harty, S., Dinan, T. G., Cryan, J. F., & Burnet, P. W. J. (2016). Psychobiotics and the Manipulation of Bacteria-Gut-Brain Signals. *Trends in Neurosciences*, *39*(11), 763–781. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.09.002>

- Savage, D. C. (1977). MICROBIAL ECOLOGY OF THE GASTROINTESTINAL TRACT. *Annual Review of Microbiology*, 31(1), 107–133.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.mi.31.100177.000543>
- Scheperjans, F., Aho, V., Pereira, P. A. B., Koskinen, K., Paulin, L., Pekkonen, E., Haapaniemi, E., Kaakkola, S., Eerola-Rautio, J., Pohja, M., Kinnunen, E., Murros, K., & Auvinen, P. (2015). Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Movement Disorders*, 30(3), 350–358.  
<https://doi.org/10.1002/mds.26069>
- Schirmer, M., Franzosa, E. A., Lloyd-Price, J., McIver, L. J., Schwager, R., Poon, T. W., Ananthakrishnan, A. N., Andrews, E., Barron, G., Lake, K., Prasad, M., Sauk, J., Stevens, B., Wilson, R. G., Braun, J., Denson, L. A., Kugathasan, S., McGovern, D. P. B., Vlamakis, H., ... Huttenhower, C. (2018). Dynamics of metatranscription in the inflammatory bowel disease gut microbiome. *Nature Microbiology*, 3(3), 337–346.  
<https://doi.org/10.1038/s41564-017-0089-z>
- Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M., & Finlay, B. B. (2010). Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiological Reviews*, 90(3), 859–904.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009>
- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell*, 164(3), 337–340.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.013>
- Sevelsted, A., Stokholm, J., Bønnelykke, K., & Bisgaard, H. (2015). Cesarean Section and Chronic Immune Disorders. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 70(5), 303–305.  
<https://doi.org/10.1097/01.ogx.0000466336.81671.9f>
- Sgritta, M., Dooling, S. W., Buffington, S. A., Momin, E. N., Francis, M. B., Britton, R. A., & Costa-Mattioli, M. (2019). Mechanisms Underlying Microbial-Mediated Changes in Social Behavior in Mouse Models of Autism Spectrum Disorder. *Neuron*, 101(2), 246–259.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.11.018>
- Shao, Y., Forster, S. C., Tsaliki, E., Vervier, K., Strang, A., Simpson, N., Kumar, N., Stares, M. D., Rodger, A., Brocklehurst, P., Field, N., & Lawley, T. D. (2019). Stunted microbiota and opportunistic pathogen colonization in caesarean-section birth. *Nature*, 574(7776), 117–121. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1560-1>
- Simon, C., & Daniel, R. (2011). Metagenomic analyses: past and future trends. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(4), 1153–1161.  
<https://doi.org/10.1128/AEM.02345-10>
- Singh, R., Chandrashekarappa, S., Bodduluri, S. R., Baby, B. V., Hegde, B., Kotla, N. G., Hiwale, A. A., Saiyed, T., Patel, P., Vijay-Kumar, M., Langille, M. G. I., Douglas, G. M., Cheng, X., Rouchka, E. C., Waigel, S. J., Dryden, G. W., Alatassi, H., Zhang, H.-G., Haribabu, B., ... Jala, V. R. (2019). Enhancement of the gut barrier integrity by a

- microbial metabolite through the Nrf2 pathway. *Nature Communications*, 10(1), 89. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07859-7>
- Sivan, A., Corrales, L., Hubert, N., Williams, J. B., Aquino-Michaels, K., Earley, Z. M., Benyamin, F. W., Lei, Y. M., Jabri, B., Alegre, M.-L., Chang, E. B., & Gajewski, T. F. (2015). Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science (New York, N.Y.)*, 350(6264), 1084–1089. <https://doi.org/10.1126/science.aac4255>
- Sjögren, Y. M., Tomicic, S., Lundberg, A., Böttcher, M. F., Björkstén, B., Sverremark-Ekström, E., & Jenmalm, M. C. (2009). Influence of early gut microbiota on the maturation of childhood mucosal and systemic immune responses. *Clinical & Experimental Allergy*, 39(12), 1842–1851. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03326.x>
- Smith, K., McCoy, K. D., & Macpherson, A. J. (2007). Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota. *Seminars in Immunology*, 19(2), 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2006.10.002>
- Sommer, F., & Bäckhed, F. (2013). The gut microbiota — masters of host development and physiology. *Nature Reviews Microbiology*, 11(4), 227–238. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2974>
- Sommer, M. O. A., Dantas, G., & Church, G. M. (2009). Functional Characterization of the Antibiotic Resistance Reservoir in the Human Microflora. *Science*, 325(5944), 1128–1131. <https://doi.org/10.1126/science.1176950>
- Song, S. J., Lauber, C., Costello, E. K., Lozupone, C. A., Humphrey, G., Berg-Lyons, D., Caporaso, J. G., Knights, D., Clemente, J. C., Nakielny, S., Gordon, J. I., Fierer, N., & Knight, R. (2013). Cohabiting family members share microbiota with one another and with their dogs. *eLife*, 2, e00458. <https://doi.org/10.7554/eLife.00458>
- Sonnenburg, J. L., Xu, J., Leip, D. D., Chen, C.-H., Westover, B. P., Weatherford, J., Buhler, J. D., & Gordon, J. I. (2005). Glycan Foraging in Vivo by an Intestine-Adapted Bacterial Symbiont. *Science*, 307(5717), 1955–1959. <https://doi.org/10.1126/science.1109051>
- Spiegel, B. M. R., Gralnek, I. M., Bolus, R., Chang, L., Dulai, G. S., Mayer, E. A., & Naliboff, B. (2004). Clinical Determinants of Health-Related Quality of Life in Patients With Irritable Bowel Syndrome. *Archives of Internal Medicine*, 164(16), 1773. <https://doi.org/10.1001/archinte.164.16.1773>
- Spielman, L. J., Gibson, D. L., & Kleggeris, A. (2018). Unhealthy gut, unhealthy brain: The role of the intestinal microbiota in neurodegenerative diseases. *Neurochemistry International*, 120, 149–163. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2018.08.005>
- Spiller, R. C. (2000). Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut*, 47(6), 804–811. <https://doi.org/10.1136/gut.47.6.804>

- Stark, P. L., & Lee, A. (1982). The Microbial Ecology of the Large Bowel of Breastfed and Formula-fed Infants During the First Year of Life. *Journal of Medical Microbiology*, 15(2), 189–203. <https://doi.org/10.1099/00222615-15-2-189>
- Stark, P. L., Lee, A., & Parsonage, B. D. (1982). Colonization of the large bowel by *Clostridium difficile* in healthy infants: quantitative study. *Infection and Immunity*, 35(3), 895–899. <https://doi.org/10.1128/iai.35.3.895-899.1982>
- Stein, M. M., Hrusch, C. L., Gozdz, J., Igartua, C., Pivniouk, V., Murray, S. E., Ledford, J. G., Marques Dos Santos, M., Anderson, R. L., Metwali, N., Neilson, J. W., Maier, R. M., Gilbert, J. A., Holbreich, M., Thorne, P. S., Martinez, F. D., von Mutius, E., Vercelli, D., Ober, C., & Sperling, A. I. (2016). Innate Immunity and Asthma Risk in Amish and Hutterite Farm Children. *The New England Journal of Medicine*, 375(5), 411–421. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1508749>
- Stevens, B. R., Roesch, L., Thiago, P., Russell, J. T., Pepine, C. J., Holbert, R. C., Raizada, M. K., & Triplett, E. W. (2021). Depression phenotype identified by using single nucleotide exact amplicon sequence variants of the human gut microbiome. *Molecular Psychiatry*, 26(8), 4277–4287. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-0652-5>
- Stewart, C. J., Ajami, N. J., O'Brien, J. L., Hutchinson, D. S., Smith, D. P., Wong, M. C., Ross, M. C., Lloyd, R. E., Doddapaneni, H., Metcalf, G. A., Muzny, D., Gibbs, R. A., Vatanen, T., Huttenhower, C., Xavier, R. J., Rewers, M., Hagopian, W., Toppari, J., Ziegler, A.-G., ... Petrosino, J. F. (2018). Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study. *Nature*, 562(7728), 583–588. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0617-x>
- Strader, A. D., & Woods, S. C. (2005). Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology*, 128(1), 175–191. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.10.043>
- Strigo, I. A., & Craig, A. D. (Bud). (2016). Interoception, homeostatic emotions and sympathovagal balance. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1708), 20160010. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0010>
- Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X.-N., Kubo, C., & Koga, Y. (2004). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *The Journal of Physiology*, 558(1), 263–275. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063388>
- Sun, M.-F., Zhu, Y.-L., Zhou, Z.-L., Jia, X.-B., Xu, Y.-D., Yang, Q., Cui, C., & Shen, Y.-Q. (2018). Neuroprotective effects of fecal microbiota transplantation on MPTP-induced Parkinson's disease mice: Gut microbiota, glial reaction and TLR4/TNF- $\alpha$  signaling pathway. *Brain, Behavior, and Immunity*, 70, 48–60. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.02.005>
- Sun, Y., Sommerville, N. R., Liu, J. Y. H., Ngan, M. P., Poon, D., Ponomarev, E. D., Lu, Z., Kung, J. S. C., & Rudd, J. A. (2020). Intra-gastrointestinal amyloid- $\beta$ 1–42 oligomers

- perturb enteric function and induce Alzheimer's disease pathology. *The Journal of Physiology*, 598(19), 4209–4223. <https://doi.org/10.1113/JP279919>
- Tannock, G. W., Fuller, R., Smith, S. L., & Hall, M. A. (1990). Plasmid profiling of members of the family Enterobacteriaceae, lactobacilli, and bifidobacteria to study the transmission of bacteria from mother to infant. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(6), 1225–1228. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.6.1225-1228.1990>
- The Integrative Human Microbiome Project: Dynamic Analysis of Microbiome-Host Omics Profiles during Periods of Human Health and Disease. (2014). *Cell Host & Microbe*, 16(3), 276–289. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.08.014>
- Tolhurst, G., Heffron, H., Lam, Y. S., Parker, H. E., Habib, A. M., Diakogiannaki, E., Cameron, J., Grosse, J., Reimann, F., & Gribble, F. M. (2012). Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*, 61(2), 364–371. <https://doi.org/10.2337/db11-1019>
- Trasande, L., Blustein, J., Liu, M., Corwin, E., Cox, L. M., & Blaser, M. J. (2013). Infant antibiotic exposures and early-life body mass. *International Journal of Obesity* (2005), 37(1), 16–23. <https://doi.org/10.1038/ijo.2012.132>
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., & Gordon, J. I. (2007). The Human Microbiome Project. *Nature*, 449(7164), 804–810. <https://doi.org/10.1038/nature06244>
- Turnbaugh, P. J., Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Knight, R., & Gordon, J. I. (2009a). The Effect of Diet on the Human Gut Microbiome: A Metagenomic Analysis in Humanized Gnotobiotic Mice. *Science Translational Medicine*, 1(6). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000322>
- Turnbaugh, P. J., Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Knight, R., & Gordon, J. I. (2009b). The Effect of Diet on the Human Gut Microbiome: A Metagenomic Analysis in Humanized Gnotobiotic Mice. *Science Translational Medicine*, 1(6). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000322>
- Underwood, M. A., German, J. B., Lebrilla, C. B., & Mills, D. A. (2015). Bifidobacterium longum subspecies infantis: champion colonizer of the infant gut. *Pediatric Research*, 77(1–2), 229–235. <https://doi.org/10.1038/pr.2014.156>
- Vandeputte, D., Kathagen, G., D'hoel, K., Vieira-Silva, S., Valles-Colomer, M., Sabino, J., Wang, J., Tito, R. Y., De Commer, L., Darzi, Y., Vermeire, S., Falony, G., & Raes, J. (2017). Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Nature*, 551(7681), 507–511. <https://doi.org/10.1038/nature24460>
- Vascellari, S., Palmas, V., Melis, M., Pisanu, S., Cusano, R., Uva, P., Perra, D., Madau, V., Sarchioto, M., Oppo, V., Simola, N., Morelli, M., Santoru, M. L., Atzori, L., Melis, M., Cossu, G., & Manzin, A. (2020). Gut Microbiota and Metabolome Alterations Associated with Parkinson's Disease. *MSystems*, 5(5). <https://doi.org/10.1128/mSystems.00561-20>



- Ventura, M., O’Flaherty, S., Claesson, M. J., Turrone, F., Klaenhammer, T. R., van Sinderen, D., & O’Toole, P. W. (2009). Genome-scale analyses of health-promoting bacteria: probiogenomics. *Nature Reviews Microbiology*, *7*(1), 61–71. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2047>
- Vogt, N. M., Kerby, R. L., Dill-McFarland, K. A., Harding, S. J., Merluzzi, A. P., Johnson, S. C., Carlsson, C. M., Asthana, S., Zetterberg, H., Blennow, K., Bendlin, B. B., & Rey, F. E. (2017). Gut microbiome alterations in Alzheimer’s disease. *Scientific Reports*, *7*(1), 13537. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13601-y>
- von Mutius, E. (2016). The microbial environment and its influence on asthma prevention in early life. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *137*(3), 680–689. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.12.1301>
- Wang, F.-B., & Powley, T. L. (2007). Vagal innervation of intestines: afferent pathways mapped with new en bloc horseradish peroxidase adaptation. *Cell and Tissue Research*, *329*(2), 221–230. <https://doi.org/10.1007/s00441-007-0413-7>
- Wang, P., Tu, K., Cao, P., Yang, Y., Zhang, H., Qiu, X.-T., Zhang, M.-M., Wu, X.-J., Yang, H., & Chen, T. (2021). Antibiotics-induced intestinal dysbacteriosis caused behavioral alternations and neuronal activation in different brain regions in mice. *Molecular Brain*, *14*(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00759-w>
- Wang, W.-L., Xu, S.-Y., Ren, Z.-G., Tao, L., Jiang, J.-W., & Zheng, S.-S. (2015). Application of metagenomics in the human gut microbiome. *World Journal of Gastroenterology*, *21*(3), 803–814. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i3.803>
- Weng, M., & Walker, W. A. (2013). The role of gut microbiota in programming the immune phenotype. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, *4*(3), 203–214. <https://doi.org/10.1017/S2040174412000712>
- Whitman, W. B., Coleman, D. C., & Wiebe, W. J. (1998). Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(12), 6578–6583. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.12.6578>
- Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y.-Y., Keilbaugh, S. A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W. A., Knight, R., Sinha, R., Gilroy, E., Gupta, K., Baldassano, R., Nessel, L., Li, H., Bushman, F. D., & Lewis, J. D. (2011). Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science (New York, N.Y.)*, *334*(6052), 105–108. <https://doi.org/10.1126/science.1208344>
- Xiao, B., Niu, X., Han, N., Wang, B., Du, P., Na, R., Chen, C., & Liao, Q. (2016). Predictive value of the composition of the vaginal microbiota in bacterial vaginosis, a dynamic study to identify recurrence-related flora. *Scientific Reports*, *6*, 26674. <https://doi.org/10.1038/srep26674>
- Yang, J., Zheng, P., Li, Y., Wu, J., Tan, X., Zhou, J., Sun, Z., Chen, X., Zhang, G., Zhang, H., Huang, Y., Chai, T., Duan, J., Liang, W., Yin, B., Lai, J., Huang, T., Du, Y., Zhang, P., ... Xie, P. (2020). Landscapes of bacterial and metabolic signatures and their interaction

- in major depressive disorders. *Science Advances*, 6(49).  
<https://doi.org/10.1126/sciadv.aba8555>
- Zádor, F., Joca, S., Nagy-Grócz, G., Dvoráckó, S., Szűcs, E., Tömböly, C., Benyhe, S., & Vécsei, L. (2021). Pro-Inflammatory Cytokines: Potential Links between the Endocannabinoid System and the Kynurenine Pathway in Depression. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5903. <https://doi.org/10.3390/ijms22115903>
- Zagon, A. (2001). Does the vagus nerve mediate the sixth sense? *Trends in Neurosciences*, 24(11), 671–673. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(00\)01929-9](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(00)01929-9)
- Zeevi, D., Korem, T., Zmora, N., Israeli, D., Rothschild, D., Weinberger, A., Ben-Yacov, O., Lador, D., Avnit-Sagi, T., Lotan-Pompan, M., Suez, J., Mahdi, J. A., Matot, E., Malka, G., Kosower, N., Rein, M., Zilberman-Schapira, G., Dohnalová, L., Pevsner-Fischer, M., ... Segal, E. (2015). Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses. *Cell*, 163(5), 1079–1094. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.11.001>
- Zhang, C., Yin, A., Li, H., Wang, R., Wu, G., Shen, J., Zhang, M., Wang, L., Hou, Y., Ouyang, H., Zhang, Y., Zheng, Y., Wang, J., Lv, X., Wang, Y., Zhang, F., Zeng, B., Li, W., Yan, F., ... Zhao, L. (2015). Dietary Modulation of Gut Microbiota Contributes to Alleviation of Both Genetic and Simple Obesity in Children. *EBioMedicine*, 2(8), 968–984.  
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.07.007>
- Zheng, D., Liwinski, T., & Elinav, E. (2020a). Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research*, 30(6), 492–506.  
<https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>
- Zheng, D., Liwinski, T., & Elinav, E. (2020b). Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research*, 30(6), 492–506.  
<https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>
- Zheng, P., Yang, J., Li, Y., Wu, J., Liang, W., Yin, B., Tan, X., Huang, Y., Chai, T., Zhang, H., Duan, J., Zhou, J., Sun, Z., Chen, X., Marwari, S., Lai, J., Huang, T., Du, Y., Zhang, P., ... Wang, G. (2020). Gut Microbial Signatures Can Discriminate Unipolar from Bipolar Depression. *Advanced Science*, 7(7), 1902862.  
<https://doi.org/10.1002/adv.201902862>
- Zhou, Q., Su, X., & Ning, K. (2014). Assessment of quality control approaches for metagenomic data analysis. *Scientific Reports*, 4(1), 6957.  
<https://doi.org/10.1038/srep06957>
- Zoetendal, E. G., Akkermans, A. D. L., & De Vos, W. M. (1998). Temperature Gradient Gel Electrophoresis Analysis of 16S rRNA from Human Fecal Samples Reveals Stable and Host-Specific Communities of Active Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3854–3859. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.10.3854-3859.1998>
- Zozaya, M., Ferris, M. J., Siren, J. D., Lillis, R., Myers, L., Nsuami, M. J., Eren, A. M., Brown, J., Taylor, C. M., & Martin, D. H. (2016). Bacterial communities in penile skin, male

urethra, and vaginas of heterosexual couples with and without bacterial vaginosis. *Microbiome*, 4, 16. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0161-6>

Zuani, M., Secco, C., & Frossi, B. (2018). Mast cells at the crossroads of microbiota and IBD. *European Journal of Immunology*, 48(12), 1929–1937. <https://doi.org/10.1002/eji.201847504>