



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ**  
**Τμήμα Πολιτικών Δημόσιας Υγείας**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ**  
**ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ**  
**2017 - 2019**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ**  
**ΚΑΙ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΝΟΝΑΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ**

**Αθήνα, Μάιος 2021**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΔΗΜΟΣΙΑΣ ΥΓΕΙΑΣ**  
**Τμήμα Πολιτικών Δημόσιας Υγείας**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ**  
**ΣΠΟΥΔΩΝ ΣΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ**  
**2017 - 2019**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ**  
**ΚΑΙ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΝΟΝΑΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ**

**Επιβλέπουσα: Βασιλάκου Τώνια, Καθηγήτρια**

**Τριμελής εξεταστική επιτροπή**

1. Βασιλάκου Τώνια, Καθηγήτρια
2. Σίμου Ευστρατία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
3. Τσόγκα Αρετή, Επίκουρη Καθηγήτρια

**Αθήνα, Μάιος 2021**

## Μέλη Τριμελούς Επιτροπής

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια  
**ΒΑΣΙΛΑΚΟΥ ΝΑΪΡ – ΤΩΝΙΑ**  
Καθηγήτρια Διατροφής Ειδικών Πληθυσμιακών Ομάδων και Δημόσιας Υγείας  
Τμήματος Πολιτικών Δημόσιας Υγείας Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής

Μέλος  
**ΣΙΜΟΥ ΕΥΣΤΡΑΤΙΑ**  
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια της Επικοινωνίας και Μέσων Μαζικής Ενημέρωσης  
στη Δημόσια Υγεία

Μέλος  
**ΤΣΟΓΚΑ ΑΡΕΤΗ**  
Επίκουρη Καθηγήτρια Επιστήμης/Χημείας Τροφίμων και Διατροφής  
Τμήματος Πολιτικών Δημόσιας Υγείας Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής

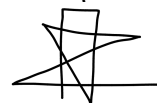
## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο κάτωθι υπογεγραμμένος Νόνας Παναγιώτης του Νικολάου, με αριθμό μητρώου 2097 φοιτητής του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών **Ειδίκευσης στη Δημόσια Υγεία** του Τμήματος **Πολιτικών Δημόσιας Υγείας** της Σχολής **Δημόσιας Υγείας** 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



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ABSTRACT.....	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	9
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ.....	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	11
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	12
ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	14
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	21
Κεφάλαιο 1. ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ – ΟΡΙΣΜΟΙ.....	22
1.1 Το εντερικό μικροβίωμα .....	23
1.2 Εργαλεία για τη μελέτη του μικροβιώματος.....	29
1.3 Οι μελέτες μεγάλης κλίμακας.....	33
Κεφάλαιο 2. ΤΟ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΙ Η ΥΓΕΙΑ.....	36
2.1 Ο υγιής μικροβιακός ιστός του εντέρου.....	37
2.2 Μητρικό γάλα, γήρανση και εντερικό μικροβίωμα.....	39
Κεφάλαιο 3. ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ: ΔΥΣΒΙΩΣΗ ΚΑΙ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΑΝΤΙΣΤΑΣΕΩΝ.....	43
3.1 Επίδραση των αντιβιοτικών στο μικροβίωμα.....	44
3.2 Αυξημένη ευαισθησία στις λοιμώξεις.....	45
3.3 Ανοσολογική ομοιόσταση και αντοχή.....	46
3.4 Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων οι αλλαγές στο μικροβίωμα επηρεάζουν το ανοσοποιητικό σύστημα και το μεταβολισμό.....	48
3.5 Το μικροβίωμα ως δεξαμενή αντίστασης στα αντιβιοτικά.....	51

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	54
Κεφάλαιο 4. ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ.....	55
Κεφάλαιο 5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ .....	57
Κεφάλαιο 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΑ .....	59
6.1 Πρωτεΐνες.....	60
6.2 Λίπη.....	62
6.3 Πεπτώμενοι υδατάνθρακες.....	64
6.4 Μη αφομοιώσιμοι υδατάνθρακες – Πρεβιοτικά.....	66
6.5 Προβιοτικά.....	67
6.6 Πολυφαινόλες.....	70
6.7 Βιταμίνη D.....	71
Κεφάλαιο 7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	72
Κεφάλαιο 8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ .....	79
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - ΠΗΓΕΣ.....	83

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Εισαγωγή:** Η μελέτη στο ανθρώπινο μικροβίωμα έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον των ερευνητών και συγκεκριμένα μετά την ανάπτυξη από την γονιδιωματική και τη σύστοιχη επιστήμη της βιο-πληροφορικής. Τα δύο βακτηριακά φύλα που κυριαρχούν στο ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα είναι τα Firmicutes και τα Bacteroidetes, τα οποία αλληλεπιδρούν τόσο μεταξύ τους, όσο και με το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή, βοηθώντας τον οργανισμό κατά την ομοιοστάση. Κάθε άτομο έχει το δικό του εντερικό μικροβίωμα το οποίο διαφέρει μεταξύ των φύλων, ανάμεσα σε άτομα διαφόρων ηλικιών και επηρεάζεται μέσω διατροφικών συνηθειών και άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων.

**Σκοπός:** Η μελέτη έχει σκοπό την κατανόηση της έννοιας του εντερικού μικροβιώματος και τη σύνδεση του με την καθημερινή διατροφή.

**Υλικό και Μέθοδοι:** Η παρούσα εργασία αποτελεί μια βιβλιογραφική ανασκόπηση. Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση στις παρακάτω βάσεις δεδομένων: Pub Med, Openarchives.gr, Elsevier Publishing House και Google Scholar .

**Αποτελέσματα:** Η διατροφή υψηλή σε φυτική πρωτεΐνη οδηγεί στην αύξηση Bifidobacterium και Lactobacillus, ενώ μειώνει επίσης τα παθογόνα Bacteroides και Clostridium. Η πρωτεΐνη που παρασκευάζεται από υψηλής ποιότητας βιολογικά μπιζέλια, έχει επίσης αναφερθεί ότι οδηγεί στην αύξηση των εντερικών επιπέδων βραχείας αλύσου λιπαρών οξέων (SCFAs), τα οποία θεωρούνται αντιφλεγμονώδη και σημαντικά ώστε να διατηρηθεί το φράγμα του βλεννογόνου. Αποτυπώθηκαν τα νεότερα επιστημονικά δεδομένα για τη διατροφή, τον τρόπο ζωής και την κατανάλωση αντιβιοτικών που επηρεάζουν την μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου η οποία με την σειρά της παίζει καθοριστικό ρόλο στην υγεία μας. Τεκμηριώθηκε η συσχέτιση συγκεκριμένου τύπου μικροβιώματος στα υγιή και ασθενή άτομα, η τροποποίηση της εξέλιξης μίας νόσου μέσω της αλλαγής της σύνθεσης του μικροβιώματος και η επίδραση των τροφών στην διαμόρφωση συγκεκριμένου τύπου μικροβιώματος. Επιπλέον καταδείχθηκε ο μηχανισμός δυσβίωσης και πρόκλησης νόσου καθώς και πρακτικές μέθοδοι αποφυγής αυτών. Ειδικότερα αναλύθηκε η σχέση συγκεκριμένων συστατικών της τροφής όπως οι πρωτεΐνες, τα λίπη, οι υδατάνθρακες, τα προβιοτικά, οι πολυφαινόλες και η βιταμίνη D με το μικροβίωμα.

**Συμπεράσματα:** Η διατροφή φαίνεται να επιδρά σημαντικά κατά τη σύνθεση της μικροβιακής κοινότητας του εντέρου. Τα ανωτέρω τεκμηριώνουν την ανάγκη για διατήρηση ενός υγιούς εντερικού μικροβιώματος, ενώ συμπερασματικά η εξατομικευμένη διατροφή προσφέρει μια ελπιδοφόρα μελλοντική θεραπευτική προσέγγιση στο πλαίσιο της ιατρικής ακρίβειας που εφαρμόζεται μέσα από σύγχρονες τεχνικές.

**Λέξεις-κλειδιά:** Μικροβίωμα, διατροφή, συστατικά τροφών, αντιβιοτικά, νόσος, μικροβιακή χλωρίδα, δυσβίωση, προβιοτικά

## ABSTRACT

**Background:** Researchers have recently gained interest in the study of the human microbiome, especially after the development of genomics and the corresponding science of bio-informatics. Firmicutes and Bacteroidetes are the two dominant bacterial species of the human intestinal microbiota, which communicate with each other but also with the immune system of the host, contributing to the organism's homeostasis. Individuals have their own intestinal microbiome which depends on sex and age and is influenced by eating habits and other environmental factors.

**Objective:** The present study aimed at understanding the concept of gut microbiota and its relation to daily diet.

**Material And Methods:** The present study is a literature review. The following databases were searched: Pub Med, Openarchives.gr, Elsevier Publishing House and Google Scholar.

**Results:** A diet high in vegetable protein has been reported to increase Bifidobacterium and Lactobacillus, while additionally reducing the pathogens Bacteroides and Clostridium. Protein made from high quality organic peas has also been shown to increase intestinal short-chain fatty acid (SCFAs) levels, which are considered anti-inflammatory and important for maintaining the mucosal barrier. The latest scientific data on nutrition, lifestyle, consumption of antibiotics that affect the gut microbial flora, which in turn plays a key role in our health are displayed. The correlation of a specific type of microbiome in healthy and sick individuals, the modification of the development of a disease through the change of the composition of the microbiome and the effect of food on the formation of a specific type of microbiome were documented. In addition, the mechanism of dysbiosis and disease induction as well as practical methods of their avoidance were demonstrated. In particular, the relationship of specific components of food such as proteins, fats, carbohydrates, probiotics, polyphenols and vitamin D to the microbiome was analyzed.

**Conclusion:** Diet seems to have a particularly important effect on the composition of the intestinal microbial community. The above justifies the need to maintain a healthy intestinal microbiome, while in conclusion personalized nutrition offers a promising future therapeutic approach in the context of medical precision applied through modern techniques.

**Keywords:** Gut microbiota, diet, food ingredients, antibiotics, disease, microbial flora, dysbiosis, probiotics



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.1 <i>Τα φύλα και τα πιο αντιπροσωπευτικά γένη των βακτηρίων που αποικίζουν τον άνθρωπο (συμβιωτικά και δυναμικά παθογόνα).....</i>	26
--	----

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1.1 <i>Αναλογία των κυριότερων φύλων βακτηρίων στο εντερικό μικροβίωμα</i> .....	27
--	----

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

EIKONA 1. Αντίκτυπος της μεσογειακής δίαιτας στο εντερικό μικροβίωμα και στην υγεία .....	18
EIKONA 2. Η σχέση κατανάλωσης διαιτητικού προτύπου και μικροβιώματος.....	20
EIKONA 3. Το ανθρώπινο μικροβίωμα.....	24
EIKONA 4. Μέθοδοι ανάλυσης DNA μικροβιώματος.....	31
EIKONA 5. Σχεδιασμός μελέτης με χρήση συνδυασμένων μεταγονιδιωματικών λειτουργιών και φαινοτυπικών προσεγγίσεων.....	32
EIKONA 6. Τι είναι γνωστό και τι άγνωστο σε σχέση με το μικροβίωμα του ανθρώπου.....	35
EIKONA 7. Το εντερικό μικροβίωμα στην υγεία και στην εντερική νόσο.....	38
EIKONA 8. Κυρίαρχα φύλα βακτηρίων στο εντερικό μικροβίωμα για κάθε ηλικιακή φάση ζωής. Θηλασμός και μπουκάλι.....	40
EIKONA 9. Μεταβολές της εντερικής χλωρίδας του ανθρώπου στις διάφορες ηλικίες. Φυσιολογικός τοκετός και καισαρική.....	42
EIKONA 10. Ο αντίκτυπος της διαιτητικής πρωτεΐνης στο εντερικό μικροβίωμα και τα αποτελέσματά της στην υγεία.....	61
E I K O N A 11. Αντίκτυπος των διαιτητικών λιπών στο μεταβολισμό του ξενιστή. Ο ρόλος του υποδοχέα τύπου (TLR), του λευκού λιπώδους ιστού (WAT), της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL)..	64
EIKONA 12. Κατανοώντας το ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα: τα διαφορετικά πεδία -omics- που εμπλέκονται και οι παράγοντες επιρροής του μικροβιώματος .....	69
EIKONA 13. Οι κυριότερες κατηγορίες διατροφικών πολυφαινολών.....	70
EIKONA 14. Ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στην υγεία και στην ασθένεια. Διάφοροι παράγοντες συμπεριλαμβανομένων της δίαιτας, των αντιβιοτικών και γενετικοί παράγοντες του ξενιστή μπορεί να επιδράσουν στη μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου προκαλώντας δυσβίωση η οποία προάγει την φλεγμονή και άλλες διαταραχές στην υγεία.....	82

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

<b>AM</b>	Ανθρώπινο Μικροβίωμα
<b>ΣΜ</b>	Στείρο Μικροβίων
<b>AAD</b>	Antibiotic Associated Diarrheas
<b>ARGs</b>	Antibiotic Resistance Genes
<b>CD</b>	Νόσος του Chron
<b>GI</b>	Γαστρεντερική οδός
<b>GLP1</b>	Glucagon Like Peptide 1
<b>GALT</b>	Gut-Associated Lymphoid Tissue
<b>GPCRs</b>	G-Protein Coupled Receptors
<b>IBD</b>	Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου
<b>IgA, G</b>	Ανοσοσφαιρίνη A, G
<b>IGF-1</b>	Insulin like Growth Factor -1
<b>IL-6,8,10</b>	Ιντερλευκίνη 6,8,10
<b>HDL</b>	Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
<b>HGP</b>	Πρόγραμμα ανθρώπινου γονιδιώματος
<b>HFD</b>	High Fat Diet
<b>HMP</b>	Human Microbiome Project
<b>hsCRP</b>	C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής ευαισθησίας

<b>HTS</b>	High-Throughput Sequencing
<b>LDL</b>	Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
<b>LPS</b>	Λιποπολυσακχαρίτες
<b>MACs</b>	Microbiota Accessible Carbohydrates
<b>MAMPS</b>	Microbial Associated Molecular Patterns
<b>MetaHIT</b>	Metagenomics of the Human Intestinal Tract
<b>NEC</b>	Necrotizing Enterocolitis
<b>NF-κB</b>	Nuclear Factor kappa-light chain enhancer of B cells
<b>NIH/USA</b>	Εθνικό ινστιτούτο υγείας των ΗΠΑ
<b>NOD1</b>	Nucleotide Oligomerization Domain 1
<b>PCR</b>	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
<b>rRNA</b>	Ριβοσωμικό RNA
<b>SCFAs</b>	Βραχείας αλυσού λιπαρά οξέα
<b>SFB</b>	Segmented Filamentous Bacteria
<b>Th 1, 2, 17</b>	T-helper 1, 2, 17
<b>TLRs</b>	Toll Like Receptors
<b>TMAO</b>	Οξείδιο της τριμεθυλαμίνης
<b>Tregs</b>	T-ρυθμιστικά κύτταρα
<b>VLDL</b>	Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μικροβίωμα μπορεί να οριστεί ως μια κοινότητα από κοινούς, συμβιωτικούς και παθογόνους μικροοργανισμούς που κατοικούν σε όλα τα είδη των πολυκύτταρων οργανισμών. Ο πληθυσμός των μικροβίων που αποικίζει τον άνθρωπο ονομάζεται «ανθρώπινο μικροβίωμα» (AM) ή «ανθρώπινη μικροχλωρίδα». Πρόσφατες μελέτες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η βακτηριακή ποικιλότητα είναι εντυπωσιακή επειδή έχει μεγάλο αριθμό μικροβίων αλλά περιορισμένο αριθμό φύλων. Από τα πενήντα βακτηριακά φύλα που έχουν απομονωθεί μέχρι τώρα μόνο τέσσερα είναι διαφορετικά και συγκεκριμένα μικροοργανισμοί των φύλων Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria and Proteobacteria, εντοπίζονται στον ανθρώπινο βλεννογόνο και στο δέρμα. Με βάση τα ανωτέρω ότι η βιοποικιλότητα έχει περιοριστεί μέσω της φυσικής επιλογής κατά τη διάρκεια των δεκάδων χιλιάδων χρόνων στα οποία συνεξελίσσονται οι μικροοργανισμοί και ο άνθρωπος. Παρατηρείται επίσης ότι όλα τα άτομα σε κάθε θηλαστικό είδος, συμπεριλαμβανομένου του homo sapiens, έχουν στη διάθεσή τους πρακτικά μια μοναδική χλωρίδα, κάτι σαν «μικροβιακό αποτύπωμα» (Human Microbiome Project Consortium, 2012). Στο παρελθόν οι μελετητές είχαν προσπαθήσει να καταγράψουν τους πληθυσμούς των μικροβίων κάθε ανατομικής περιοχής και ειδικότερα του εντέρου, μετά την εργαστηριακή καλλιέργεια των βακτηρίων σε ειδικά υποστρώματα και την απομόνωσή τους. Οι σύγχρονες τεχνολογίες βασίζονται στην μέθοδο PCR (Polymerase Chain Reaction), ενώ η ταξινόμηση των μικροβίων γίνεται με βάση την αλληλουχία του γονιδίου 16S rRNA.

Στη διεθνή βιβλιογραφία, υπάρχει εναλλαγή των όρων gut microbiota και gut microbiome, αλλά παρατηρείται μία στοιχειώδης διαφορά ανάμεσά τους. Πιο αναλυτικά, ο όρος (gut microbiota) / εντερικό μικροβίωμα αναφέρεται στους μικροοργανισμούς που ζουν στο γαστρεντερικό σωλήνα ενός ατόμου και αποτελούνται από βακτήρια, ιούς (φάγοι), αρχαία (archaea), μύκητες, καθώς και σε ευκαρυωτικούς μικροοργανισμούς και χαρακτηρίζεται ως μικροχλωρίδα του εντέρου. Ο όρος (gut microbiome) αναφέρεται στα γονίδια των μικροβίων της μικροχλωρίδας του εντέρου ενός ατόμου (Μεντής, Γύπας και Μεντής, 2013). Η σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος μεταβάλλεται στα διάφορα άτομα ανάλογα με την ηλικία και την ανάπτυξη. Περισσότερα από χίλια (1000) είδη βακτηρίων έχουν απομονωθεί από το έντερο, ενώ κάθε διαφορετικό άτομο φέρει στο έντερό του το πολύ 160 είδη από αυτά (Simpson et Campbell, 2015). Αν και ο σχηματισμός της μικροβιοχλωρίδας του γαστρεντερικού σωλήνα αρχίζει κατά τη στιγμή της γέννησης, η τελική σύνθεση για τους κυριότερους βακτηριακούς πληθυσμούς, διαμορφώνεται περίπου κατά τη διάρκεια των

δύομισι πρώτων χρόνων ζωής του ατόμου. Το 70-80% από τη σύνθεση της μικροχλωρίδας παραμένει σταθερό καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής, ενώ το 20-30% μπορεί να μεταβληθεί λόγω διαφόρων παραγόντων. Το εντερικό μικροβίωμα κάθε ανθρώπου είναι εξατομικευμένο (Μεντής, Γύπας και Μεντής 2013, Landman et Quévrain 2016, Kashtanova et al. 2016).

Ποικίλοι παράγοντες ασκούν επιρροή κατά τη διάρκεια της σύνθεσης του εντερικού μικροβιώματος, η οποία μπορεί να μεταβληθεί λόγω της ηλικίας, της διατροφής, της γενικότερης κατάστασης της υγείας, της φυσικής δραστηριότητας, της λήψης αντιβιοτικών, των γεωγραφικών παραγόντων και των περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως η υγιεινή και η κοινωνικοοικονομική κατάσταση. Καθοριστικό παράγοντα αποτελεί ο μητρικός θηλασμός, καθώς τα μικρόβια του αδένου του μαστού και του γάλακτος αποτελούν τα πρώτα που θα εισέλθουν στον οργανισμό και ασκούν επιρροή τόσο στη διαδικασία της δημιουργίας της αρχικής σύστασης της μικροχλωρίδας του εντέρου του βρέφους, όσο και στη διαδικασία της τελικής διαμόρφωσής της, μεταβολίζουν και επιδρούν στη διαδικασία κατά την οποία ωριμάζει το ανοσοποιητικό σύστημα του βρέφους. Άλλος παράγοντας που επηρεάζει τη σύνθεση του μικροβιώματος είναι αν το άτομο έχει γεννηθεί με καισαρική τομή ή με φυσιολογικό τοκετό (Kashtanova et al., 2016).

Οι άνθρωποι γεννιούνται και το εντερικό τους περιβάλλον θεωρείται στείρο μικροβίων, ωστόσο ο εντερικός αποικισμός ξεκινάει απευθείας μετά τη γέννηση και ολοκληρώνεται περίπου στα δύομιση έως τρία πρώτα χρόνια της ζωής τους. Στο χρονικό αυτό διάστημα αναπτύσσεται το επιθήλιο του εντέρου, το οποίο μέσω του εκκριτικού του βλεννογόνου, αποτελεί τον πρώτο αποτελεσματικό φραγμό του εντέρου, για την είσοδο των μικροβίων στη συστηματική κυκλοφορία. Η παρουσία της χλωρίδας του εντέρου σε συνδυασμό με τον ισχυρό βλεννογόνο φραγμό του εντέρου αποτελούν μία αποτελεσματική συνέργεια που λειτουργεί ως εμπόδιο για τους παθογόνους μικροοργανισμούς (Koh et al., 2018).

Η σχέση ανάμεσα στη μικροβιοχλωρίδα του εντέρου και στον άνθρωπο δεν αποτελεί μόνο μια μη επιβλαβή συνύπαρξη, αλλά μάλλον μια αμοιβαία σχέση - συμβίωση. Η σχέση ανάμεσα στο εντερικό ΑΜ και στους ξενιστές είναι συμβιωτική, κατά τη διάρκεια της οποίας υπάρχουν κοινά οφέλη. Στην συνύπαρξη αυτή ο ξενιστής συμβάλλει με την προσφορά περιβάλλοντος ανάπτυξης και διατροφής στα βακτήρια του εντέρου και αυτά τον διευκολύνουν προσφέροντας του αντοχή στις λοιμώξεις και διευκολύνοντάς τον στην απορρόφηση των τροφών οι οποίες έχουν υποστεί πέψη. Παρατηρείται, επομένως, «συνεξέλιξη» μεταξύ των ευκαρυωτικών ξενιστών και των συμβιωτικών βακτηρίων μέσω αμοιβαίων αλληλεπιδράσεων

που βασίζονται σε οφέλη που παρέχει η διατροφή και τα οποία απολαμβάνουν και τα δύο μέρη.

Οι μικροοργανισμοί του εντέρου ωφελούν τον ξενιστή με τη ζύμωση των διαιτητικών ινών στα βραχεία αλύσου λιπαρά οξέα (SCFAs), όπως το οξικό οξύ, το βουτυρικό οξύ και το προπιονικό οξύ, τα οποία απορροφώνται στη συνέχεια από τον ξενιστή. Τα εντερικά βακτήρια παίζουν επίσης ρόλο στην πέψη των υπολειπόμενων υποστρωμάτων συνεισφέροντας έτσι στη σύνθεση των βιταμινών του συμπλέγματος Β (κοβαλαμίνη/B12, φυλλικό οξύ, θιαμίνη/B1, ριβοφλαβίνη/B2), της βιταμίνης Κ, βασικών αμινοξέων καθώς και στο μεταβολισμό των χολικών οξέων, των στερολών, των ξενοβιοτικών και των φαρμάκων (Haro et al., 2017).

Η σύνθεση του μικροβιώματος του εντέρου στον άνθρωπο μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου, στα διάφορα στάδια ανάπτυξης, καθώς μεταβάλλεται η διατροφή και η συνολική υγεία του. Μια συστηματική ανασκόπηση του 2015 εξέτασε κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους που λάμβαναν διαφορετικό τύπο διατροφής και κατέγραψε τις μεταβολές του μικροβιώματος και των μεταβολικών παραμέτρων των ατόμων καθώς και τα οφέλη από τον υψηλό βαθμό προσκόλλησης στην Μεσογειακή διατροφή (De Filippis et al, 2015).

Το μικροβίωμα του εντέρου του ανθρώπου συνίσταται από βακτήρια, μύκητες, πρωτόζωα, και ιούς. Τα δύο βακτηριακά φύλα που κυριαρχούν στο ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα είναι τα Firmicutes και τα Bacteroidetes, τα οποία αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και με τον ξενιστή, τον προστατεύουν από λοιμώξεις και συμβάλλουν σε βασικές λειτουργίες, ώστε να μεταβολιστούν οι τροφές. Τα Bacteroidetes χρησιμοποιούν ένα ευρύ φάσμα υποστρωμάτων και παράγουν κυρίως προπιονικό οξύ. Ανάμεσα στα είδη των Firmicutes υπάρχουν αυτά που παράγουν βουτυρικό οξύ και εξειδικεύονται στην αποδόμηση των δύσπεπτων πολυσακχαριτών (Simpson et Campbell, 2015).

Ο ρόλος της διατροφής στην διαμόρφωση της μικροβιακής χλωρίδας του εντέρου ξεκινά από τα πρώτα χρόνια της ζωής του ανθρώπου, καθορίζοντας και την τελική σύνθεση του μικροβιώματος του ενήλικου ατόμου. Οι διάφοροι τύποι δίαιτας ασκούν διαφορετικές επιδράσεις στην ποικιλομορφία του μικροβιώματος. Η αυξημένη ή μειωμένη πρόσληψη θρεπτικών συστατικών οδηγεί σε αφθονία ή ελάττωση αντιστοίχως των διαθέσιμων υποστρωμάτων για την ανάπτυξη των μικροβίων στο έντερο. Έτσι προάγεται η συμβίωση ή η δυσβίωση των βακτηρίων της εντερικής μικροβιοχλωρίδας με τον ξενιστή (Alou Maryam Tidjani et al., 2016, Agans et al., 2018).

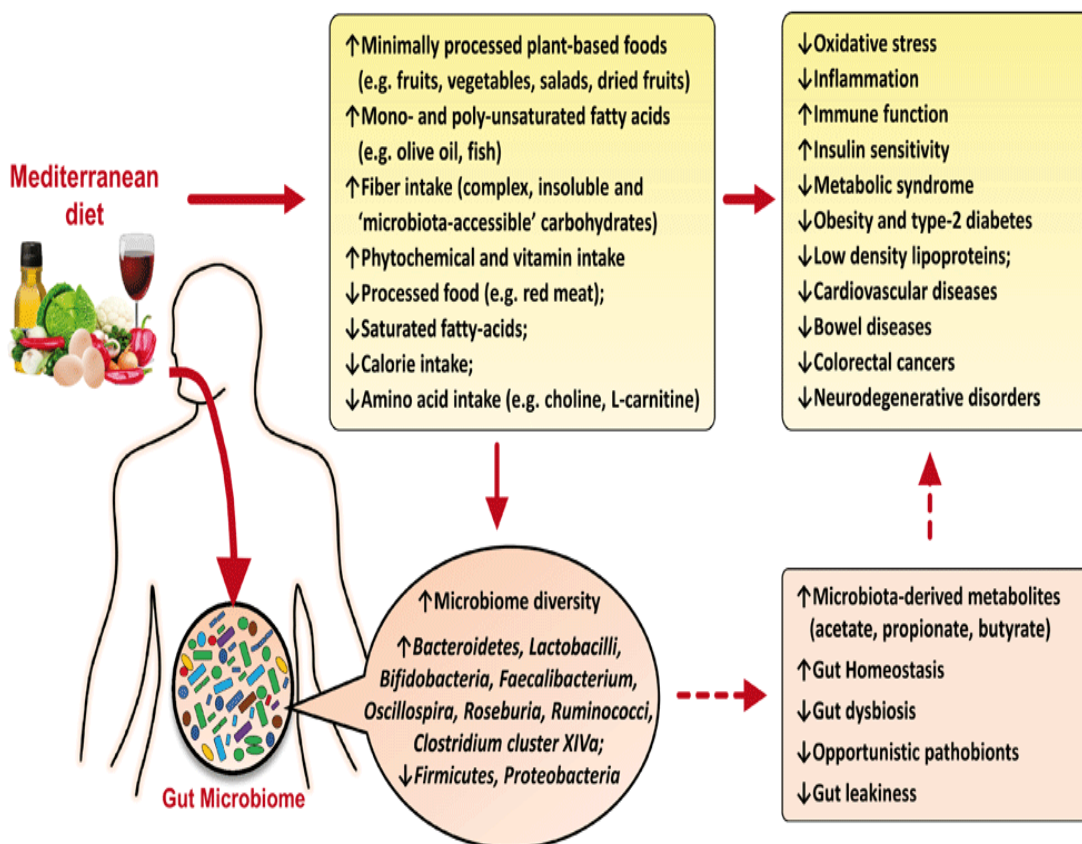


Διάφορες δημοφιλείς δίαιτες, όπως η Δυτικού τύπου, η ελεύθερη γλουτένης, η παμφαγική, η χορτοφαγική, η αποκλειστικά χορτοφαγική (vegan) και η Μεσογειακή διαίτα, έχουν ερευνηθεί για την ικανότητά τους να ρυθμίζουν την σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος. Σε πολλές έρευνες, η διαίτα δυτικού τύπου προκάλεσε ελάττωση στο συνολικό αριθμό των βακτηρίων καθώς και των ευεργετικών ειδών *Bifidobacterium* και *Eubacterium* του εντέρου (Drasar et al., 2007). Η κατανάλωση μιας διαίτας δυτικού τύπου έχει επίσης συσχετιστεί με τη διαδικασία παραγωγής νιτροζαμινών που μπορούν να οδηγήσουν στην εμφάνιση καρκίνου (Park et al., 2015).

Ο Sanz και οι συνεργάτες του μελέτησαν δέκα υγιείς ανθρώπους που ακολούθησαν διατροφή χωρίς γλουτένη για ένα μήνα. Μετά την έναρξη της διαίτας, παρατηρήθηκε ότι ο αριθμός των «υγιών βακτηρίων» (*Bifidobacterium* και *Lactobacillus*) μειώθηκε, ενώ ο αριθμός των δυνητικά παθογόνων βακτηρίων αυξήθηκε με τη μείωση της πρόσληψης πολυσακχαρίτη. Συγκεκριμένα, ανιχνεύθηκε αύξηση του αριθμού των *E.coli* και των συνολικών *Enterobacteriaceae*, τα οποία μπορεί να περιέχουν άλλα ευκαιριακά παθογόνα (Sanz et al., 2010). Άλλοι ερευνητές (Bonder et al., 2016) μελέτησαν επίσης τα αποτελέσματα μιας βραχυπρόθεσμης διατροφής χωρίς γλουτένη και παρατήρησαν ελάττωση των μικροβιακών πληθυσμών των βακτηρίων *Ruminococcus* και *Roseburia* και αύξηση του αριθμού των εντερικών *Clostridia*.

Οι δίαιτες για χορτοφάγους και αυστηρά χορτοφάγους είναι πλούσιες σε ζυμώσιμα φυτικά τρόφιμα. Μία μελέτη συνέκρινε τις δίαιτες για χορτοφάγους και αυστηρά χορτοφάγους με μια διαίτα ελέγχου χωρίς περιορισμούς και συμπέρανε ότι οι vegans και οι χορτοφάγοι είχαν σημαντικά χαμηλότερο αριθμό ειδών *Bifidobacterium* και *Bacteroides* στο έντερο (Wu et al., 2014) ( $p < 0,001$ ). Μια άλλη έρευνα διαπίστωσε μια μέτρια διαφορά στα μικρόβια του εντέρου των vegan σε σχέση με τα παμφάγα άτομα (Zimmer et al., 2012). Η απόκλιση ανάμεσα στις δύο έρευνες ίσως προκύπτει λόγω χρήσης διαφορετικών μεθοδολογιών για τη δημιουργία του προφίλ των μικροβίων, σε διαφορετικές δίαιτες των ομάδων ελέγχου και / ή στη γενετική του ξενιστή. Απαιτούνται μελλοντικές έρευνες για να δώσουν περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις διαφορετικές επιδράσεις των χορτοφαγικών και αυστηρά χορτοφαγικών διαιτών στο μικροβίωμα του εντέρου.

**Εικόνα 1. Αντίκτυπος της μεσογειακής διαίτας στο εντερικό μικροβίωμα και στην υγεία**



**Πηγή:** /Nagpal R, Shively CA, Register TC et al. Gut microbiome-Mediterranean diet interactions in improving host health [version 1; peer review: 1 approved]. *F1000Research* 2019, 8:699 (<https://doi.org/10.12688/f1000research.18992.1/>)

Σε όλο το φάσμα των ερευνών, η τήρηση του μεσογειακού προτύπου διατροφής θεωρείται ευεργετική. Χαρακτηρίζεται από ένα ευεργετικό προφίλ λιπαρών οξέων, το οποίο είναι πλούσιο σε μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, από υψηλή περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες και άλλα αντιοξειδωτικά, υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες και άλλους υδατάνθρακες χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη και από υψηλότερη κατανάλωση φυτικής πρωτεΐνης σε σχέση με τη ζωική πρωτεΐνη. Ειδικότερα, υπάρχει αυξημένη κατανάλωση ελαιολάδου, διαφόρων φρούτων, λαχανικών, δημητριακών, φασολιών και ξηρών καρπών. Η παραδοσιακή μεσογειακή διατροφή συστήνει τη σχετικά περιορισμένη κατανάλωση των ψαριών, των πουλερικών, του κόκκινου κρασιού καθώς και τη χαμηλότερη πρόσληψη γαλακτοκομικών προϊόντων, κόκκινου κρέατος, μεταποιημένου κρέατος και γλυκών (Lopez-Legarrea et al., 2014). Ο De Filippis και οι συνεργάτες του μελέτησαν τα πιθανά πλεονεκτήματα που μπορεί να έχει η μεσογειακή διατροφή με τη σύγκριση των διατροφικών συνηθειών παμφάγων, χορτοφάγων και vegans. Παρατήρησαν ότι η πλειονότητα από τους

vegan και τους χορτοφάγους, αλλά μόνο το 30% από τους παμφάγους, είχαν υψηλή προσήλωση στην τήρηση της παραδοσιακής μεσογειακής διατροφής. Ανίχνευσαν σημαντικούς συσχετισμούς ανάμεσα στο βαθμό προσκόλλησης στη μεσογειακή διατροφή και στα αυξημένα επίπεδα SCFAs, βακτηρίων *Prevotella* και άλλων βακτηρίων *Firmicutes*, στα κόπρανα. Την ίδια στιγμή, η παρέκκλιση από το μεσογειακό πρότυπο διατροφής συνδέθηκε με αυξημένη συγκέντρωση οξειδίου της τριμεθυλαμίνης των ούρων, που συνδέεται με την παρουσία αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου (De Filippis et al., 2015). Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η προσήλωση στο μεσογειακό πρότυπο μειώνει το ποσοστό σωματικού λίπους και βελτιώνει τα επίπεδα των λιπιδίων και τη φλεγμονή. Αυτές οι αλλαγές μπορεί να προκαλούνται από τις επαγόμενες από τη δίαιτα αυξήσεις των μικροβιακών πληθυσμών του εντέρου σε *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* και *Prevotella*, και τις αντίστοιχες μειώσεις των *Clostridium* (Furet et al., 2010, Fava et al., 2013).

Η τροποποίηση της μικροχλωρίδας του εντέρου μέσω μεταμόσχευσης εντερικού περιεχομένου από δότη που είναι υγιής, αποτελεί αποτελεσματική και ασφαλή θεραπεία για την αντιμετώπιση φλεγμονωδών παθήσεων του εντέρου και τη λοίμωξη από *Clostridium difficile* (Vermeire et al., 2016). Ο τρόπος με τον οποίο χρησιμοποιούνται οι πρε- και προβιοτικοί μικροοργανισμοί για τη θεραπευτική τροποποίηση της μικροχλωρίδας του εντέρου θα πρέπει να επανεξεταστεί σύμφωνα με τα νέα δεδομένα (Barzegari et al., 2012, Gueimonte et Collando, 2012).

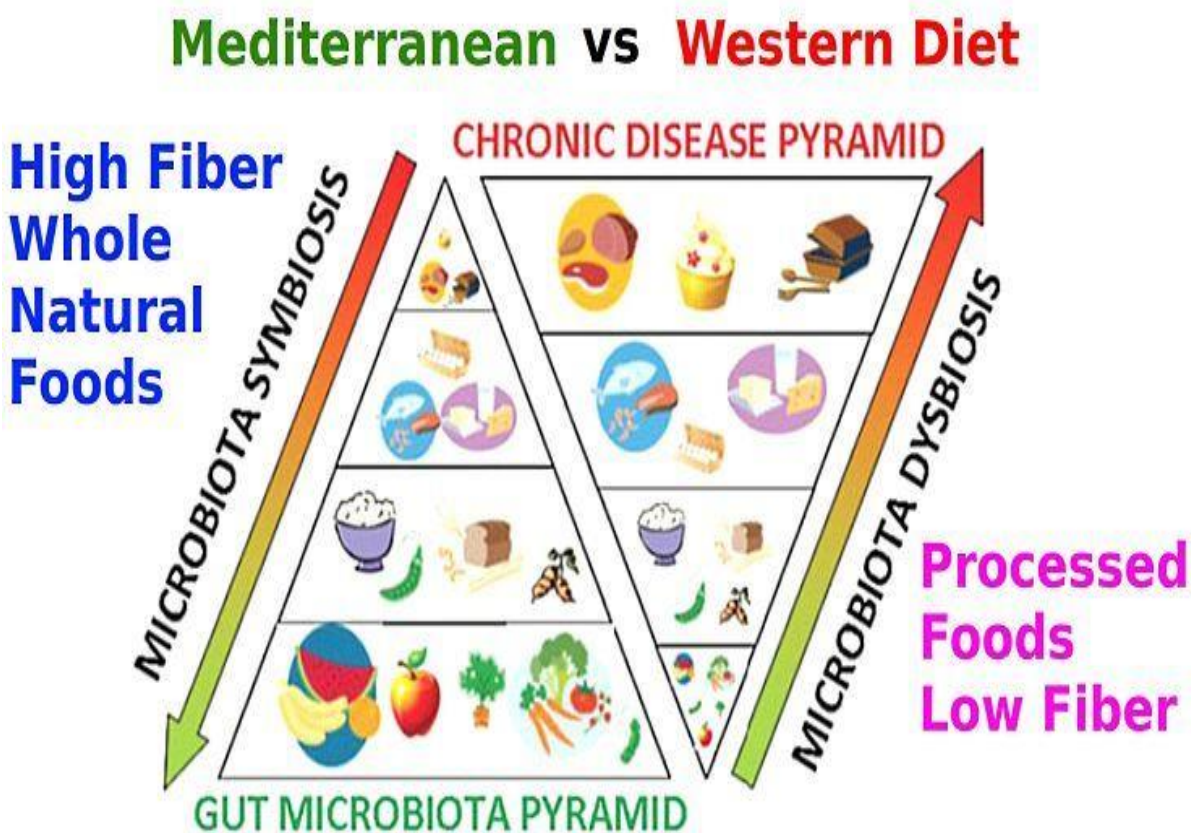
Όταν διαταραχθεί η ισορροπία του μικροβιακού πληθυσμού στο έντερο «δυσβίωση» για διάφορες αιτίες (όπως επαναλαμβανόμενη χορήγηση και κατάχρηση αντιβιοτικών ή αλκοόλ), μπορεί να εμφανιστούν παθολογικές καταστάσεις όπως ήπια χρόνια εντερική φλεγμονή ή μεταβολικές διαταραχές (Alou Maryam Tidjani et al., 2016). Η δυσβίωση των μικροβιακών πληθυσμών του εντέρου επιδρά σημαντικά στην υγεία και συσχετίζεται με παθήσεις που αφορούν το πεπτικό σύστημα όπως οι ιδιοπαθείς εντερικοί φλεγμονώδεις νόσοι (ελκώδης κολίτιδα και νόσος του Crohn), ο ορθοκολικός καρκίνος, οι ηπατοχολικές παθήσεις, η παχυσαρκία καθώς και άλλα αλλεργικά νοσήματα όπως το άσθμα (Ehrlich S.D., 2016).

Η αιτιολογία της παχυσαρκίας και του μεταβολικού συνδρόμου είναι πολυπαραγοντική και εξαρτάται από γενετικούς, περιβαλλοντικούς και ανοσολογικούς παράγοντες. Μελέτες σε πειραματικά μοντέλα και παχύσαρκους ασθενείς που διενεργήθηκαν για τον έλεγχο συσχέτισης της λειτουργίας του μικροβιώματος με την παχυσαρκία, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι στα παχύσαρκα άτομα τροποποιείται τόσο η σύνθεση όσο και η λειτουργία αυτού. Έτσι, το μικροβίωμα αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην διαχείριση του σωματικού

βάρους. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι το «μικροβίωμα της παχυσαρκίας» λειτουργεί αυξάνοντας την ικανότητα του ξενιστή να απορροφά περισσότερες θερμίδες από τα τρόφιμα. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι η χλωρίδα δρα έμμεσα στα επιθηλιακά κύτταρα ελέγχοντας την κατανάλωση ενέργειας και την αποθήκευσή της. Ωστόσο, έχουν προταθεί αρκετοί πιθανοί μηχανισμοί για την προαγωγή της παχυσαρκίας από το μικροβίωμα, συμπεριλαμβανομένης της πρόκλησης φλεγμονής χαμηλού βαθμού από τους λιποπολυσακχαρίτες, της ρύθμισης των γονιδίων των ξενιστών που είναι υπεύθυνα για την κατανάλωση και αποθήκευση της ενέργειας και την επικοινωνία του μικροβιώματος του εντέρου και του ξενιστή μέσω ενδοκρινικών κυττάρων. Τα άτομα με φυσιολογικό βάρος έχουν μεγαλύτερη ποικιλομορφία στο οικοσύστημα του εντέρου από εκείνα με παχυσαρκία (Μεντής, Γύπας και Μεντής, 2013).

Ένας ακόμη πολύ σημαντικός παράγοντας που ασκεί επιρροή στη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος αυξάνοντας την ποικιλομορφία του εντέρου είναι η φυσική άσκηση. Το στρες της άσκησης, επάγει μηχανισμούς που καταλήγουν σε σημαντικές αλλαγές στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και στο μεταβολισμό του ξενιστή (Clark et al., 2016).

Εικόνα 2. Η σχέση κατανάλωσης διατροφικού προτύπου και μικροβιώματος



Πηγή: <https://www.gutmicrobiotaforhealth.com/conserving-restoring-human-gut-microbiome-increasing-consumption-dietary-fibre/>

## **A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ – ΟΡΙΣΜΟΙ**

## 1.1 Το εντερικό μικροβίωμα

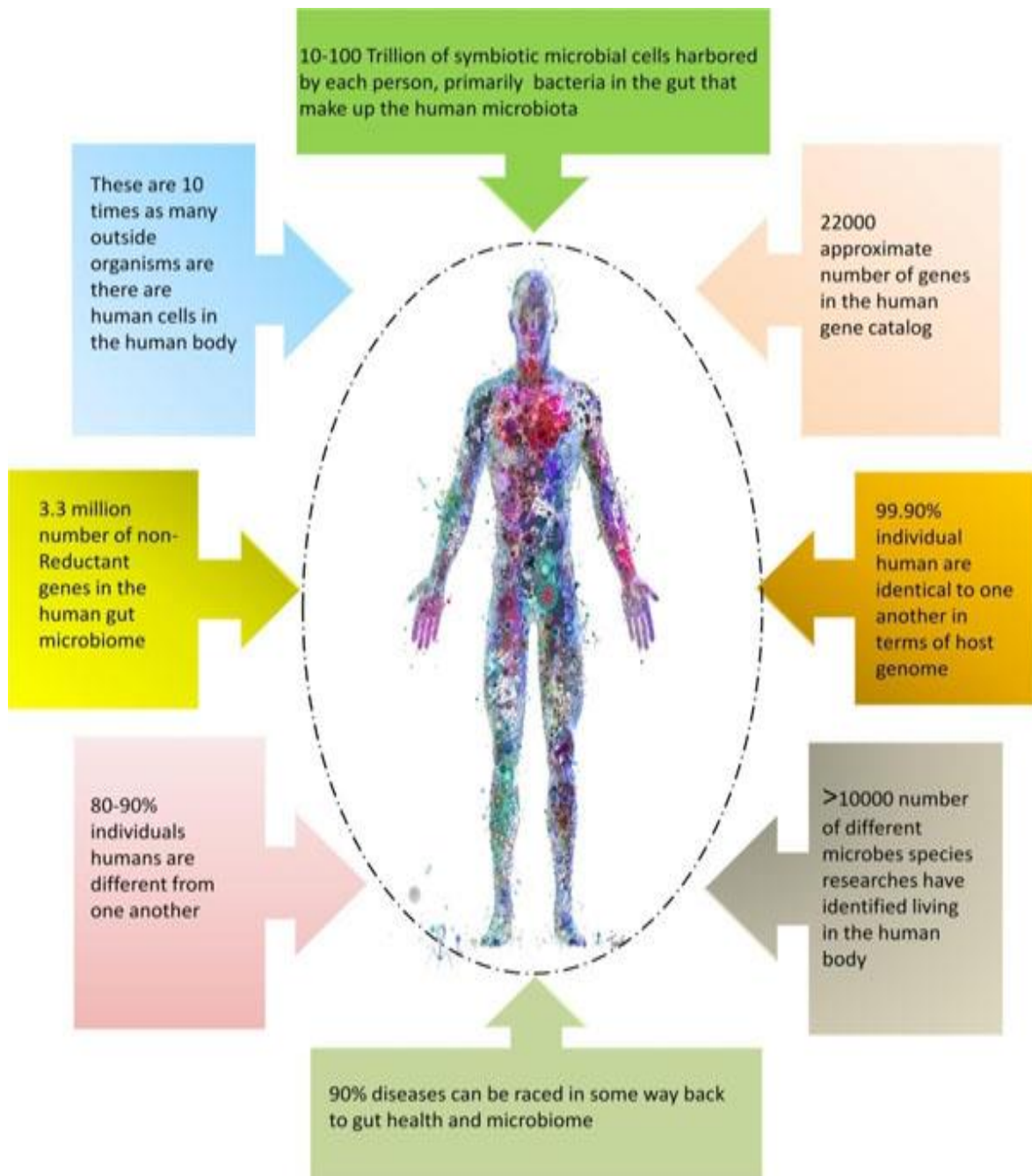
Το μικροβίωμα είναι αντιπροσωπευτικό ενός συνόλου μικροοργανισμών που διαβιούν σε ένα περιβάλλον που ήδη υπάρχει. Μικροβιακές αποικίες βρίσκονται σχεδόν σε όλες τις επιφάνειες του ανθρώπινου σώματος που εκτίθενται στο εξωτερικό περιβάλλον, όπως το δέρμα, η ουρογεννητική οδός, οι αναπνευστικοί ιστοί και η επιφάνεια του γαστρεντερικού σωλήνα (Gut Microbiota for Health, 2019). Οι βακτηριακές κοινότητες που βρίσκονται σε συγκεκριμένες περιοχές του ανθρώπινου σώματος μοιάζουν περισσότερο μεταξύ τους, από βακτηριακές κοινότητες σε διαφορετικές περιοχές του ανθρώπινου σώματος. Ενδεικτικά οι βακτηριακές κοινότητες της στοματικής κοιλότητας ανάμεσα στα άτομα μοιάζουν περισσότερο από εκείνες που βρίσκονται στο δέρμα και στον κόλπο των ατόμων. Επίσης, σε όλα τα σημεία του σώματος παρατηρείται σημαντική μεταβλητότητα στο ίδιο το άτομο (Costello et al., 2009). Το μικροβίωμα του ανθρώπου (AM) αποτελεί ένα περίπλοκο οικοσύστημα, το οποίο υπολογίζεται σε  $10^{14}$  βακτηριακά κύτταρα, αριθμός δέκα φορές μεγαλύτερος από τα συνολικά κύτταρα του ανθρώπινου σώματος, με βάρος μέχρι δύο κιλά και για αυτό τείνει να χαρακτηριστεί ως όργανο. Με αυτό τον τρόπο, στο ανθρώπινο μικροβίωμα έχει αποδοθεί ο όρος του «υπερ-οργανισμού» ή «ξεχασμένου οργάνου» ή «του εκτεταμένου γονιδιώματός μας».

Το ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα περιλαμβάνει δεκάδες τρισεκατομμύρια μικροοργανισμών, μέσα στους οποίους συμπεριλαμβάνονται τουλάχιστον χίλια διαφορετικά είδη από γνωστά βακτήρια. Το ένα τρίτο του εντερικού μικροβιώματος είναι όμοιο στους περισσότερους ανθρώπους και τα δύο τρίτα είναι ειδικά για κάθε άτομο (Gut Microbiome Health, 2019). Ο πρώτος κατάλογος μικροβιακών γονιδίων δημιουργήθηκε το 2010, δέκα χρόνια μετά τον προσδιορισμό της αλληλουχίας του ανθρώπινου γονιδιώματος και αναλύθηκαν 124 άτομα από την Ευρώπη (Qin et al., 2010). Ο κατάλογος αναλύει 3,3 εκατομμύρια γονίδια, το 99% των οποίων είναι βακτήρια και τα υπόλοιπα είναι ιοί και ευκαρυωτικοί μικροοργανισμοί. Το μικροβίωμα του εντέρου περιέχει εκατό πενήντα φορές παραπάνω γονίδια σε σχέση με αυτά που εμπεριέχονται στον άνθρωπο. Ένας πιο πρόσφατος κατάλογος γονιδίων κυκλοφόρησε μετά από τέσσερα χρόνια. Περιέχει 3,3 εκατομμύρια γονίδια και ανακαλύφθηκε αναλύοντας δέκα φορές τον αριθμό των ατόμων από τρεις ηπείρους (Ευρώπη, Ασία και Βόρεια Αμερική) και τα αναλυθέντα γονίδια αναφοράς του εντέρου (Li et al., 2014). Τουλάχιστον το 5% των συνολικών γονιδίων που βρέθηκαν στα άτομα που αναλύθηκαν, αυξήθηκε ελαφρώς με κάθε δείγμα που προστέθηκε, ενώ τα διαφορετικά γονίδια από λίγα άτομα συνέχισαν να αυξάνονται λόγω της ποικιλομορφίας. Η



πρώτη περίπτωση είναι κοντά στα βασικά συστατικά που απαρτίζουν το μικροβίωμα, ενώ τα υπόλοιπα γονίδια θεωρούνται ως μεμονωμένα μέρη, που αντιστοιχούν σε μεταβατικά είδη που εισάγονται μέσω του περιβάλλοντος από τη μία πλευρά και διαφορές των στελεχών από την άλλη. Τα βασικά μέρη του μικροβιώματος που αρχίζουν να περιγράφονται πλήρως είναι πολύ χρήσιμα για την επίλυση των προβλημάτων υγείας ενός μεγάλου πληθυσμού. (Ehrlich, 2016).

**Εικόνα 3. Το ανθρώπινο μικροβίωμα**



*Πηγή: /The Open Microbiology Journal, ISSN: 1874-2858 — Volume 14, 2020/*



Όπως δηλώνει και η ονομασία του, το μικροβίωμα του εντέρου υπάρχει στο έντερο που αποτελεί μία εκ των κυριότερων περιοχών του σώματός, η οποία έρχεται σε εκτίθεται στο εξωτερικό περιβάλλον. Αν και το κάθε άτομο έχει ένα μοναδικό μικροβίωμα, αυτό πετυχαίνει την εκπλήρωση πάντοτε των ίδιων φυσιολογικών λειτουργιών, με άμεσες επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία.

Το μικροβίωμα του ανθρώπινου εντέρου περιλαμβάνει  $10^{13}$  μόνιμους μικροοργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των βακτηρίων, των αρχαίων (αρχαιοβακτηρίων), των ιών, των μυκήτων και των πρωτόζωων, τα οποία είναι συναφή με την ανθρώπινη εντερική οδό. Μεταξύ αυτών, τα βακτήρια αντιπροσωπεύουν την καλύτερα μελετημένη ομάδα. Πρόσφατα, έχει αποδειχθεί ότι τα μικροβιακά κύτταρα μπορούν να υποδιαιρεθούν αποτελεσματικά σε διαφορετικούς εντεροτύπους, εμπλουτισμένους από συγκεκριμένα βακτηριδιακά γένη, αλλά φαίνεται ότι μοιάζουν να έχουν υψηλή λειτουργική ομοιομορφία. Αυτή η ομοιομορφία δεν σχετίζεται με χαρακτηριστικά του ξενιστή, όπως η ηλικία, το φύλο, ο δείκτης μάζας σώματος και η εθνικότητα (Inna Sekirov et al., 2010). Η μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου στα περισσότερα άτομα μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε μία εκ των τριών ομάδων ή «εντερότυπων» ανάλογα με το γένος που επικρατεί: *Bacteriodes* (εντερότυπος 1), *Prevotella* (εντερότυπος 2) ή *Ruminococcus* (εντερότυπος 3). Η ανωτέρω κατηγοριοποίηση δεν καλύπτει επαρκώς τα σύγχρονα δεδομένα διότι στο έντερο παρατηρείται η ύπαρξη πολλών ενδιάμεσων καταστάσεων. Διαιτητικοί παράγοντες καθορίζουν την επικράτηση συγκεκριμένου εντερότυπου (Jeffery et al., 2012). Η πλειοψηφία των μικροβίων του εντέρου είναι αυστηρά αναερόβια (97%) και ανήκει στα φύλα *Firmicutes* (65%), *Bacteroidetes* (30%), *Proteobacteria* και *Actinobacteria* (4%), ενώ όλα τα υπόλοιπα φύλα βακτηρίων, οι ιοί, οι μύκητες και τα αρχαία περιλαμβάνονται στο (1%) του συνόλου των μικροβίων του εντερικού μικροβιώματος. Τα βακτήρια του φύλου *Firmicutes* (*Clostridium*, *Lactobacillus*) είναι θετικά κατά τη χρώση gram, ενώ τα βακτήρια του φύλου *Bacteroidetes* (*Bacteroides*, *Prevotella*) είναι gram-αρνητικά (Cardinelli et al., 2014).

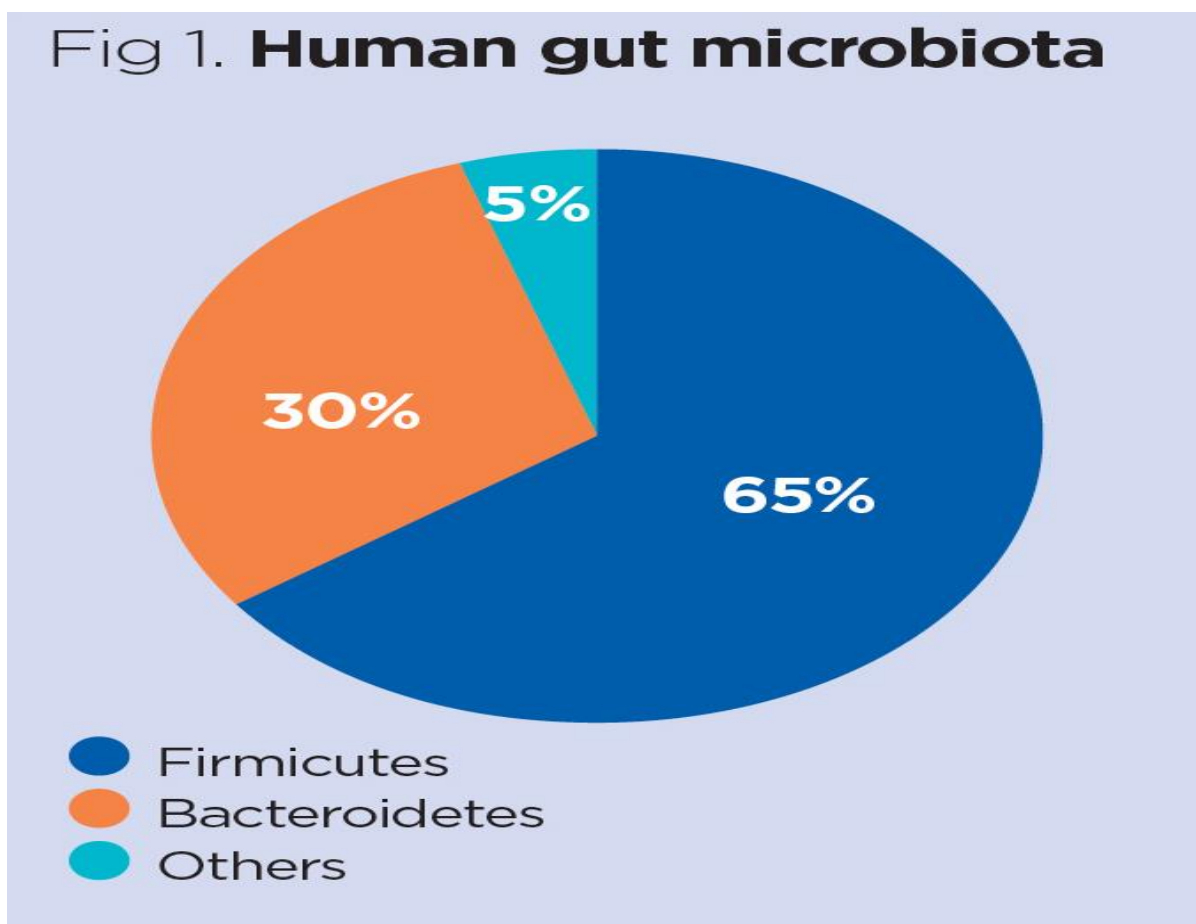
Στον παρακάτω πίνακα αποτυπώνονται τα φύλα καθώς και αντιπροσωπευτικά γένη βακτηρίων που αποικίζουν τους ανθρώπους. Ο κατάλογος περιλαμβάνει τα φύλα των συμβιωτικών βακτηριδίων (όπως το μικροβίωμα του εντέρου) και άλλων που είναι δυνητικά παθογόνα για τον άνθρωπο, αλλά είναι ατελής:

**Πίνακας 1.1 Τα φύλα και τα πιο αντιπροσωπευτικά γένη των βακτηρίων που αποικίζουν τον άνθρωπο (συμβιωτικά και δυνητικά παθογόνα)**

<b>ΦΥΛΟ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ</b>	<b>ΓΕΝΟΣ ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΩΝ</b>	<b>ΓΕΝΟΣ ΔΥΝΗΤΙΚΑ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ</b>
Firmicutes (Gram-θετικά βακτήρια), τουλάχιστον 250 γένη	<i>Dorea, Faecalibacterium, Ruminococcus, Eubacterium, Lactobacillus, Lactococcus, Enterococcus, Sporobacter, και Roseburia</i>	<i>Staphylococcus, Streptococcus, Mycoplasma, Bacillus, Clostridium</i>
Actinobacteria (Gram-θετικά βακτήρια)	<i>Bifidobacterium, Collinsella, Eggerthella, Propionibacterium</i>	<i>Campylobacterium, Mycobacterium</i>
Bacteroidetes (Gram-αρνητικά βακτήρια), πάνω από 20 γένη	<i>Bacteroides, Prevotella</i>	<i>Corynebacterium</i>
Proteobacteria (Gram-αρνητικά βακτήρια)	<i>Citrobacter, Serratia</i>	<i>Escherichia, Klebsiella, Shigella, Salmonella, Helicobacter, Coxiella, Legionella, Pseudomonas, Rickettsia, Brucella, Neisseria, Bordetella, Vibrio, Pasteurella</i>
Cyanobacteria (Gram-αρνητικά βακτήρια)		
Fusobacteria (Gram- αρνητικά βακτήρια)		<i>Fusobacterium, Streptobacillus</i>
Lentisphaerae (Gram- αρνητικά βακτήρια)		
Spirochaetes (Gram- αρνητικά βακτήρια)		
Verrucomicrobia (Gram-αρνητικά βακτήρια)	<i>Verrucomicrobium</i>	

**Πηγή: /Tazzini, D. (2015). Gut microbiota: definition, composition and the impact of diet. Tuscany Diet. <http://www.tuscany-diet.net/2015/12/31/gutmicrobiota-definition-composition/#top/>**

Διάγραμμα 1.1 Αναλογία των κυριότερων φύλων βακτηρίων στο εντερικό μικροβίωμα



Πηγή: <https://www.nursingtimes.net/clinical-archive/gastroenterology/gastrointestinal-tract-6-the-effects-of-gut-microbiota-on-human-health-21-10-2019/>

Πέρα από την μεγάλη βακτηριακή ποικιλομορφία, στο έντερο των ενηλίκων φιλοξενούνται επίσης μεγάλες και ποικίλες κοινότητες από ιούς DNA και RNA, που αποτελούνται από σχεδόν 1.500 διαφορετικά είδη γονοτύπων, όπου κανείς από αυτούς δεν κυριαρχεί αριθμητικά. Στους ενήλικες, ο αριθμός του τύπου ιού που επικρατεί είναι αντιπροσωπευτικός μόνο του 5% περίπου της κοινότητας, ενώ στα βρέφη το ποσοστό αυτό είναι αρκετά μεγαλύτερο και προσεγγίζει το 50% και πάνω της κοινότητας. Οι περισσότεροι DNA ιοί είναι βακτηριοφάγοι ή φάγοι, δηλαδή ιοί που σχετίζονται με τη μόλυνση βακτηρίων (είναι η οντότητα με την μεγαλύτερη αφθονία στη γη, με πληθυσμό που εκτιμάται σε σχεδόν  $10^{31}$  μονάδες), ενώ οι περισσότεροι RNA ιοί προέρχονται από φυτά (Tazzini, 2015).

Η πλειοψηφία των μικροοργανισμών βρίσκεται μέσα στα πιο απομακρυσμένα μέρη της πεπτικής οδού, όπου π.χ. στο παχύ έντερο η βιομάζα τους υπερβαίνει τα  $10^{10} - 10^{12}$  βακτηριακά κύτταρα ανά γραμμάριο ιστού ή κοπράνων. Τα μικρόβια στο περιφερικό έντερο

συμβάλλουν στην υγεία των ξενιστών μέσω της βιοσύνθεσης των βιταμινών και των απαραίτητων αμινοξέων, καθώς και στη δημιουργία σημαντικών μεταβολικών παραπροϊόντων από διαιτητικά συστατικά που έχουν παραμείνει ατελή στο λεπτό έντερο. Τα παραπροϊόντα λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (SCFAs), όπως βουτυρικό, προπιονικό και οξικό οξύ, δρουν ως κύρια πηγή ενέργειας για τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα και μπορούν επομένως να ενισχύσουν το φράγμα του βλεννογόνου. Επίσης, σε πειραματικές μελέτες που έκαναν σύγκριση μυών με φυσιολογική εντερική χλωρίδα και μυών με εντερικό περιεχόμενο στείρο μικροβίων (ΣΜ, χωρίς μικρόβια), παρατηρήθηκε ότι οι σπλήνες των ΣΜ μυών περιέχουν λιγότερο και μικρότερο αριθμό βλαστικών κέντρων στους λεμφαδένες και μειωμένο αριθμό Τ-λεμφοκυττάρων μνήμης (συμπλέγματος διαφοροποίησης/CD4+) στο επιθήλιο του εντέρου, ότι η παραγωγή κυτταροκινών ανήκει στη κατηγορία ανοσιακής απόκρισης τύπου Th2 και ότι τα ζώα αυτά έχουν μικρότερη ικανότητα να εκκρίνουν μικροβιοκτόνους παράγοντες. Τα παραπάνω υποδηλώνουν ότι το μικροβίωμα επιδρά σημαντικά κατά τη διάρκεια που αναπτύσσεται τόσο η έμφυτη όσο και η επίκτητη ανοσία, κατευθύνει απευθείας την τοπική εντερική ανοσία μέσω των αποτελεσμάτων του στην έκφραση γονιδίων μέσω των υποδοχέων τύπου Tolls (TLRs), των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων, των διαφοροποιημένων Τ κυττάρων και των λεμφοειδών θυλακίων, καθώς και της επίδρασης στη συστηματική ανοσία μέσω των αυξημένων σπληνικών Τ κυττάρων CD4 + και στη συστηματική έκφραση αντισωμάτων (Mazmanian et al. 2005).

Αυτά και άλλα καταγεγραμμένα οφέλη έχουν οδηγήσει σε αυξανόμενο ενδιαφέρον για την ικανότητα τροποποίησης της μικροβιακής εντερικής χλωρίδας. Μια οξεία αλλαγή στη διατροφή, για παράδειγμα σε μία διατροφή που βασίζεται αποκλειστικά σε ζωική ή σε φυτική βάση, είναι ικανή να αλλάξει τη μικροβιακή σύνθεση εντός 24 ωρών από την έναρξη, με επαναφορά στην αρχική τιμή εντός 48 ωρών από την παύση της δίαιτας (David et al., 2014). Πλέον των ανωτέρω, το εντερικό μικροβίωμα των ζώων που διατρέφονται με τροφές πλούσιες σε λιπαρά και σάκχαρα είναι πιο επιρρεπές σε διαταραχές του κερκάδιου ρυθμού (Voigt et al., 2014). Μελέτες επίσης υποδεικνύουν ότι η συστηματική καταπόνηση και φλεγμονή - όπως αυτή που προκλήθηκε από σοβαρό τραυματισμό καύσης - μπορεί επίσης να προκαλέσει χαρακτηριστικές οξείες μεταβολές στο μικροβίωμα του εντέρου μέσα σε μια μόνο μέρα από την παρατεταμένη προσβολή, όπως υπερανάπτυξη συγκεκριμένων Gram-αρνητικών αερόβιων βακτηριδίων και μετατόπιση αυτών των βακτηριδίων στους μεσεντερικούς λεμφαδένες. Αυτό αποδεικνύει ότι το έντερο μπορεί να αποτελέσει πηγή βακτηριακών λοιμώξεων μετά από κάκωση καύσης και πιθανή αιτία σήψης (Zachary et al., 2015).

## 1.2 Εργαλεία για τη μελέτη του μικροβιώματος

Η κατανόηση της σύνθεσης και της λειτουργικής ικανότητας του εντερικού μικροβιώματος αποτελεί μείζονα πρόκληση. Ωστόσο, η έρευνα σε αυτόν τον τομέα διευρύνεται συνεχώς και επί του παρόντος χρησιμοποιούνται και αναπτύσσονται διάφορες προσεγγίσεις για τον προσδιορισμό της σύνθεσης της μικροβιακής χλωρίδας του εντέρου, του γενετικού περιεχομένου και των λειτουργιών αυτής.

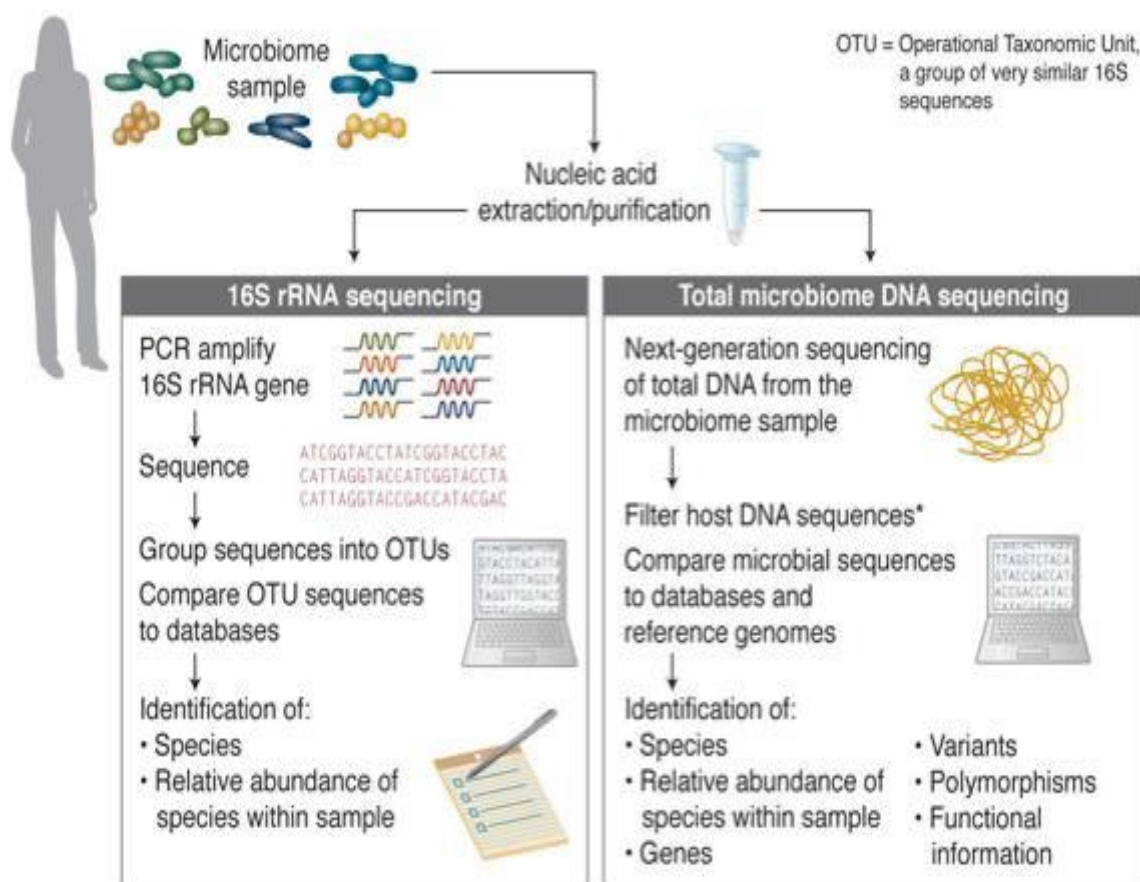
Παραδοσιακά, χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές βασισμένες σε καλλιέργειες για τον προσδιορισμό της σύνθεσης του μικροβιώματος. Μέχρι τη δεκαετία του 1990 η καλλιέργεια ήταν η μόνη διαθέσιμη μέθοδος, η οποία ήταν χαμηλού κόστους, αλλά κοπιώδης και χρονοβόρα λύση. Αυτές οι προσεγγίσεις έχουν γενικά επικεντρωθεί στα μικρόβια «εύκολης καλλιέργειας» του εντέρου και έχουν γίνει λιγότερο δημοφιλείς λόγω των ενδείξεων ότι μόνο το 10-50% των βακτηρίων του εντέρου είναι καλλιεργήσιμα. Οι μέθοδοι με βάση την καλλιέργεια έχουν σίγουρα τους περιορισμούς τους και δεν παρέχουν εύκολα μια επισκόπηση της μικροβιακής σύνθεσης του εντέρου. Πρέπει να τονίσουμε ωστόσο ότι έχουν σημειωθεί κάποιες εξελίξεις σε αυτόν τον τομέα μέσω της αυξημένης διαθεσιμότητας εξειδικευμένων μέσων για την καλλιέργεια των πιο απαιτητικών οργανισμών, καθώς και συνδυασμός νέων μεθόδων καλλιέργειας και ταυτοποίησης των μικροβίων. Αυτή η στρατηγική περιλαμβάνει την εξάλειψη των πληθυσμών που είναι επιδεκτικοί στην καλλιέργεια ή είναι πιο άφθονοι, οι οποίοι είναι παρόντες σε μεγάλους αριθμούς, για να διευκολύνουν τον εμπλουτισμό με τους πιο δύσκολους για καλλιεργητικούς σκοπούς οργανισμούς. Επίσης η εφαρμογή μεθόδων, όπως η διαφορετική διήθηση, η χρήση αντιβιοτικών, ο ενοφθαλμισμός με φρέσκο δείγμα, η ανίχνευση μικροκλώνων κ.α, οδήγησαν στην ταυτοποίηση 1.057 προκαρυωτικών ειδών, προσθέτοντας έτσι 531 είδη στην ανθρώπινη μικροβιακή ποικιλομορφία του εντέρου: 146 βακτήρια γνωστά στους ανθρώπους αλλά όχι στο έντερο, 187 βακτήρια και 1 αρχαίο που δεν είχαν απομονωθεί προηγουμένως στον άνθρωπο και 197 πιθανώς νέα είδη (Lagier et al., 2016).

Παρά τις πρόσφατες αυτές επιτυχίες, είναι σαφές ότι οι ανεξάρτητες από την καλλιέργεια προσεγγίσεις είναι καταλληλότερες για την παροχή πιο γρήγορης και ακριβέστερης γνώσης για τον μικροβιακό ιστό. Η συμβατική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και η ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου (real time PCR - rPCR) έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση γονιδίων-στόχων. Οι περισσότερες μελέτες στηρίχτηκαν στη διαδικασία πολλαπλασιασμού του γονιδίου 16S rRNA με PCR, κλωνοποίησης του αμπλικονίου, και προσδιορισμό της αλληλουχίας μέσω της μεθόδου Sanger. Ειδικότερα, η ανάπτυξη και

εφαρμογή νέων μεθόδων γρήγορης και χαμηλού κόστους ακολουθίας DNA (μαζική παράλληλη αλληλούχιση επόμενης γενιάς) ήταν επαναστατική. Η μέθοδος πυροαλληλούχισης (pyrosequencing) μπορεί να αλληλουχήσει 500 εκατομμύρια βάσεις με ακρίβεια 99% σε μία μόλις εφαρμογή και απόδοση 2000 μεγαλύτερη από τη μέθοδο Sanger. Το HTS (High-throughput sequencing) έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για να εξετάσει την πολυπλοκότητα του μικροβιώματος λόγω της ταχύτητας, της κλίμακας και των ακριβών πληροφοριών που παρέχονται, χωρίς να απαιτείται η κλωνοποίηση του DNA πριν την αλληλούχιση. Για την ανάλυση της σύνθεσης, η υπομονάδα 16S του ριβοσωμικού RNA (rRNA), που έχει 1500 βάσεις νουκλεοτιδίων, έχει στοχευθεί συχνότερα λόγω της παρουσίας της σε όλους τους προκαρυωτικούς οργανισμούς (βακτήρια) και την ύπαρξη μεταβλητών περιοχών που επιτρέπουν τη διάκριση διαφορετικών ταξινομικών κατηγοριών. Ο προσδιορισμός της αλληλουχίας αμπλικονίων 16S rRNA στο σύνολο των μικροβίων σύνθετων μικροβιακών χλωρίδων επιτρέπει την σύγκριση του εντερικού μικροβιώματος μεταξύ αδύνατων και παχύσαρκων ατόμων, τη μελέτη της επίδρασης των αντιβιοτικών κ.α. Παρόλο που η πλειοψηφία των μελετών HTS μέχρι σήμερα βασίστηκε στις πλατφόρμες καλλιέργειας με χρήση πυροφωσφορικού Roche 454, άλλες τεχνολογίες προσδιορισμού αλληλουχίας, όπως αυτές που παρέχονται από την εταιρεία Illumina, γίνονται όλο και πιο δημοφιλείς. Άλλες τεχνολογίες HTS που εφαρμόζονται είναι το σύστημα SOLID (Solid-Nitrogen for Cryocooling of HTS), οι πλατφόρμες ION (High throughput screening technologies for ion channels) και SMRT (Smart screening), ενώ αναπτύσσονται και πλατφόρμες που βασίζονται στην τεχνολογία nanopore (Jason A. Reuter et al., 2015). Ενώ οι μελέτες 16S rRNA παρέχουν δεδομένα σε σχέση με τη μικροβιακή σύνθεση ενός οικοσυστήματος, αυτές δεν παρέχουν άμεσες πληροφορίες σχετικά με τη μικροβιακή βιωσιμότητα ή το λειτουργικό δυναμικό των παρόντων πληθυσμών. Μειονέκτημα τους είναι ότι αδυνατούν να αναγνωρίσουν άγνωστα βακτήρια.

Η μεταγονιδιωματική ανάλυση στη σημερινή της απλοποιημένη περιγραφή ορίζεται ως η διαδικασία ανάλυσης της γονιδιακής σύστασης σε μια μικροβιακή κοινότητα με χρήση πειραματικών και υπολογιστικών μεθόδων, οι οποίες επιτρέπουν την ανάγνωση του γονιδιώματος των μικροοργανισμών χωρίς την ανάγκη καλλιέργειας. Ορίζεται επίσης ως η διαδικασία κατά την οποία ανακτάται γενετικό υλικό απευθείας μέσω των περιβαλλοντικών επιφανειών, π.χ. το έντερο και κατά συνέπεια περιλαμβάνει την διαδικασία κατά την οποία αναλύεται ολόκληρο το DNA σε έναν οργανισμό. Οι μελέτες μεταγονιδιωματικής ξεπερνούν το γονίδιο 16S rRNA, για να χαρακτηρίσουν το πλήρες γενετικό περιεχόμενο μιας κοινότητας, παρέχοντας έτσι μια εικόνα για την πιθανή λειτουργική ικανότητα των παρόντων μικροβίων.

**Εικόνα 4. Μέθοδοι ανάλυσης DNA μικροβιώματος (Η απομάκρυνση του DNA ξενιστή και ο εμπλουτισμός του μικροβιακού DNA αυξάνει ουσιαστικά το ποσοστό της αλληλουχίας που διαβάζεται από τις μικροβιακές αλληλουχίες ενδιαφέροντος)**

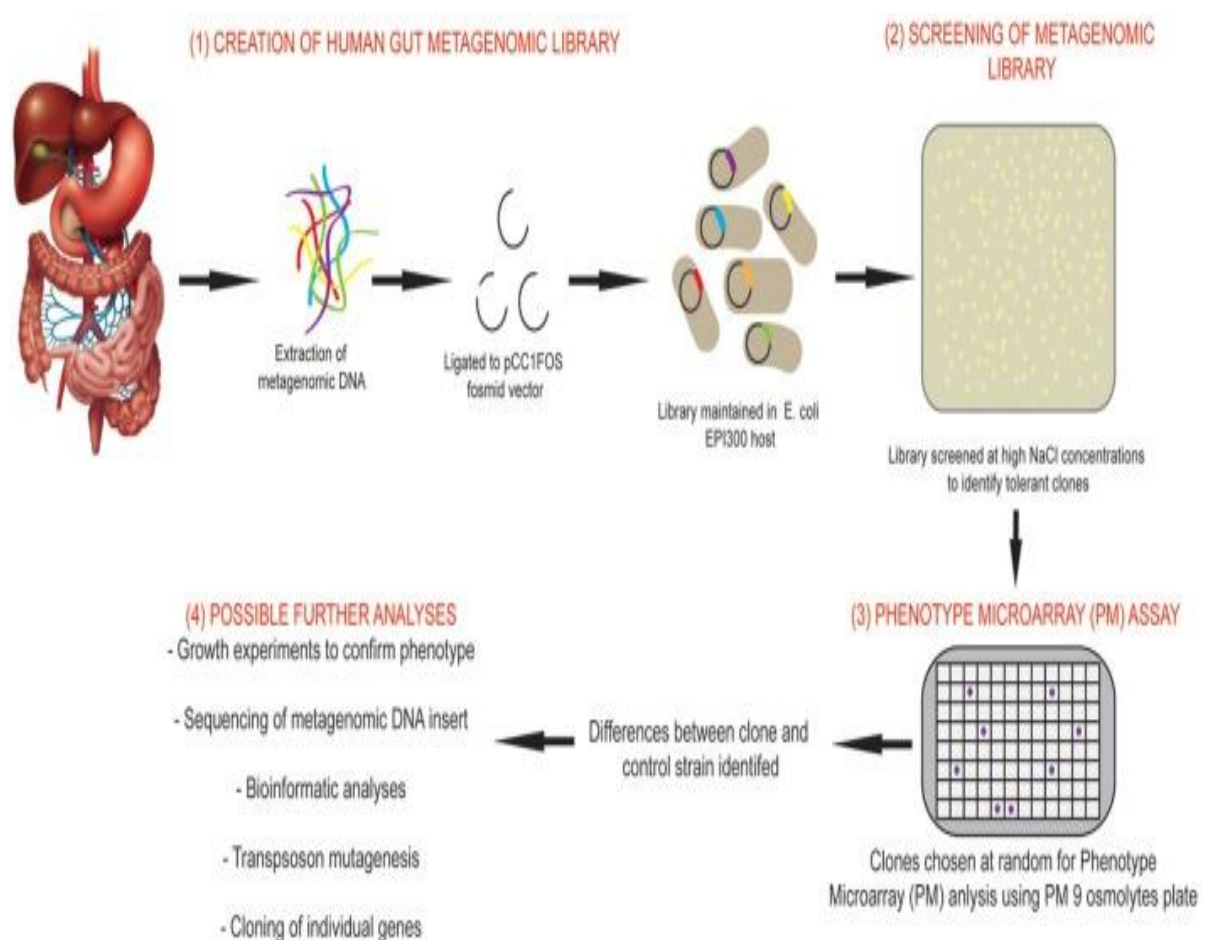


**Πηγή:** /<https://international.neb.com/tools-and-resources/feature-articles/addressing-challenges-in-microbiome-dna-analysis/>

Αυτό επιτυγχάνεται μέσω μαζικής παράλληλης αλληλούχισης ολοκλήρου του γονιδιώματος των μικροβίων που περιλαμβάνονται σε ένα δείγμα. Ανεξάρτητα από την προσέγγιση που ακολουθήθηκε, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι αυτές οι τεχνολογίες αλληλουχίας απαιτούν λεπτομερείς βιοπληροφορικές αναλύσεις για την αντιμετώπιση των μεγάλων όγκων δεδομένων που δημιουργούνται. Πράγματι, ολοένα και περισσότερο, η κύρια συμφόρηση έχει μετακινηθεί από τη δημιουργία δεδομένων στην αποθήκευση αυτών των δεδομένων και τη διαθεσιμότητα επιστημόνων με τις κατάλληλες ειδικές βιοπληροφορικές δεξιότητες. Οι συγκεκριμένες τεχνικές έχουν το πλεονέκτημα ότι είναι υψηλής απόδοσης, χαρακτηρίζουν φυλογενετικά τα στοιχεία της μικροχλωρίδας και υπολογίζουν τις σχετικές αναλογίες των οργανισμών που υπάρχουν, ενώ έχουν έναν περιορισμό, το υψηλό κόστος. Μεταγονιδιωματική ανάλυση έχει χρησιμοποιηθεί και για τον χαρακτηρισμό των ιών (ιώματος) που ευρίσκονται στην εντερική χλωρίδα (F. Gypas, A, F. A. Mentis, 2014) .

Επιπλέον, αν και αυτές οι γενετικές προσεγγίσεις έχουν δώσει πολλές πληροφορίες σχετικά με το περιεχόμενο του εντέρου, πρέπει επίσης να κατανοηθεί η δραστηριότητα αυτών των γονιδίων και η επίδρασή τους στα μεταβολικά δίκτυα εντός του εντέρου. Για να προσδιοριστεί περαιτέρω η συγκεκριμένη μικροβιακή δραστηριότητα είναι απαραίτητο να αναλυθεί η γονιδιακή έκφραση, τα πρωτεϊνικά προϊόντα και τα μεταβολικά προφίλ. Το σύνολο του γενετικού υλικού που απομονώνεται από ένα οικοσύστημα (κόπρανα, βλεννογόνο) / *metagenomics*, το σύνολο των mRNAs (ενεργά γονίδια) / *metatranscriptomics*, το σύνολο των πρωτεϊνών / *metaproteomics*, το σύνολο των μικρομοριακών μεταβολιτών / *metabolomics*, χρησιμοποιούνται ως δεδομένα για την έρευνα και το οικοσύστημα αναλύεται ως ένας ενιαίος οργανισμός. Αυτές οι τεχνικές που μπορεί να είναι σύνθετες και σε διαφορετικές εκτάσεις είναι ακόμα σε αρχικό στάδιο.

**Εικόνα 5. Σχεδιασμός μελέτης με χρήση συνδυασμένων μεταγονιδιωματικών λειτουργιών και φαινοτυπικών προσεγγίσεων**



**Πηγή:** [https://www.researchgate.net/publication/262149945\\_Combined\\_metagenomic\\_and\\_phenomic\\_approaches\\_identify\\_a\\_novel\\_salt\\_tolerance\\_gene\\_from\\_the\\_human\\_gut\\_microbiome](https://www.researchgate.net/publication/262149945_Combined_metagenomic_and_phenomic_approaches_identify_a_novel_salt_tolerance_gene_from_the_human_gut_microbiome)



### 1.3 Οι μελέτες μεγάλης κλίμακας

Οι μελέτες μεγάλης κλίμακας γεννήθηκαν από την ιδέα ότι με την ταχεία ανάπτυξη των τεχνολογιών αλληλούχισης, οι ερευνητές θα μπορούσαν να φανταστούν τη διερεύνηση του γενετικού δυναμικού των ανθρώπινων μικροβίων που μας συντροφεύουν και να κατανοήσουν τον αντίκτυπό τους στην υγεία και την ευημερία μας. Τα τελευταία χρόνια πραγματοποιήθηκαν πολλές σημαντικές πρωτοβουλίες χρηματοδότησης με σκοπό την κατανόηση της πολυπλοκότητας του ανθρώπινου μικροβιώματος, συμπεριλαμβανομένου του περιβάλλοντος των εντέρων. Η Ευρωπαϊκή κοινοπραξία μεταγονιδιωμικής της ανθρώπινης εντερικής οδού - Metagenomics of the Human Intestinal Tract (MetaHIT Consortium) και το Αμερικανικό πρόγραμμα διερεύνησης του ανθρώπινου μικροβιώματος – Human Microbiome Project (HMP), μέσω της αλληλουχίσης γονιδίων μεγάλης κλίμακας, εργάστηκαν για την καταγραφή του μικροβιακού προφίλ της υγιούς λειτουργίας του εντέρου και του τρόπου με τον οποίο αυτή μεταβάλλεται σε μια κατάσταση ασθένειας, με απώτερο σκοπό την προβολή των προοπτικών προαγωγής της ανθρώπινης υγείας μέσω της παρακολούθησης ή της τροποποίησης του ανθρώπινου μικροβιώματος. Στους επί μέρους στόχους των συγκεκριμένων προγραμμάτων περιλαμβάνονται:

- Να διευρυνθεί σε εθελοντές η παρουσία κοινής βασικής μικροχλωρίδας (core human microbiome)
- Να εξεταστεί η σχέση μεταβολών στις μικροχλωρίδες μέσω αλλαγών στην κατάσταση της υγείας
- Να αναπτυχθούν τεχνολογικά εργαλεία για να υποστηριχθούν οι έρευνες πάνω στο AM
- Να αντιμετωπιστούν οι ηθικές νομικές και κοινωνικές επιπτώσεις από την έρευνα περί ανθρώπινου μικροβιώματος.

Το MetaHIT Consortium είναι ένα μεγάλο έργο συνεργασίας, χρηματοδοτούμενο από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή, στο οποίο συμμετείχαν 15 ινστιτούτα και 8 χώρες. Επικεντρώθηκε στη διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος και των παθολογιών του εντέρου, ιδιαίτερα της παχυσαρκίας και των φλεγμονωδών νόσων του εντέρου (Σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου/IBD, νόσου του Crohn και ελκώδους κολίτιδας). Οι μελέτες αφορούν:

- Τις συγχρονικές συγκρίσεις ανάμεσα σε υγιή και ασθενή άτομα.
- Τη διαχρονική παρακολούθηση που πραγματοποιείται σε ασθενείς με κλινική ύφεση.

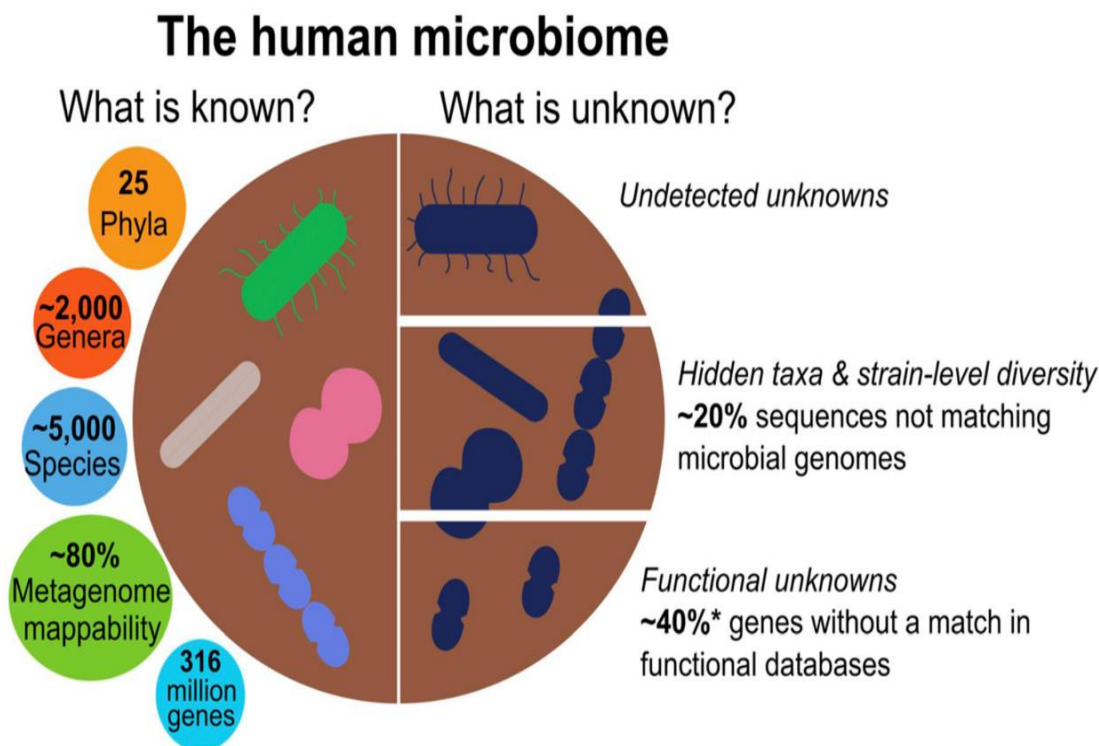
- Τη διατροφική παρέμβαση που αφορά την σταθερότητα της εντερικής μικροβιακής κοινότητας.
- Τη σύγκριση ανάμεσα σε ασθενείς που δείχνουν ανταπόκριση ή όχι σε φαρμακευτική θεραπεία.

Τα κυριότερα αποτελέσματα του έργου ήταν η δημιουργία ενός ευρέος καταλόγου μικροβιακών γονιδίων από την εντερική οδό και η ανακάλυψη εντεροτύπων. Καθένας από τους εντεροτύπους χαρακτηρίζεται από ένα κυρίαρχο βακτηρίδιο: *bacteroides*, *prevotella* και *ruminococcus*. Με την πρώτη ματιά, οι εντεροτύποι δεν φαίνεται να συνδέονται με τη γεωγραφία, την τροφή, τη γενετική ποικιλότητα, την ηλικία ή το φύλο των ατόμων. Είναι επομένως ένα θεμελιώδες χαρακτηριστικό. Σε μια περίπτωση αυτή η κοινοπραξία ανέκτησε το DNA των κοπράνων από μια ομάδα 124 ατόμων, Δανικής και Ισπανικής καταγωγής, συμπεριλαμβανομένων υγιών ατόμων και αυτών με IBD ή παχυσαρκία, για να δημιουργήσει έναν κατάλογο συνολικού αριθμού γονιδίων από τον εντερικό σωλήνα. Αυτό το έργο έδειξε ότι το 40% των γονιδίων ήταν κοινά μεταξύ των περισσότερων ατόμων και επομένως αποτελούσαν ένα βασικό μεταγονιδίωμα. Διαπιστώθηκε επίσης ότι το 99,1% των γονιδίων ήταν βακτηριακής προέλευσης, με την πλειοψηφία των υπολοίπων γονιδίων να ανήκουν στο αρχέγονο βασίλειο, ενώ ένας σχετικά μικρός αριθμός ευκαρυωτικών και ιικών γονιδίων ανιχνεύθηκε επίσης (Ehrlich, 2011).

Το HMP εγκαινιάστηκε το 2008 μέσω του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας της Αμερικής (NIH/USA) ως εννοιολογική επέκταση του Προγράμματος Ανθρώπινου Γονιδιώματος (HGP). Η ανάλυση επικεντρώθηκε στις πέντε κύριες περιοχές του σώματος: το δέρμα, τη μύτη, το στόμα, το έντερο και τον κόλπο των υγιών ανθρώπων (Dirk Gevers et al., 2012). Το 2013 το HMP1 έκλεισε με περισσότερα από 14 terabytes δεδομένων από 300 άτομα. Η δεύτερη φάση HMP2 ονομάζεται ολοκληρωμένο iHMP (integrative HMP) και δημιουργήθηκε το 2014. Δημιουργεί σύνολα δεδομένων βιολογικών ιδιοτήτων τόσο από τον μικροβίωμα όσο και από τον ξενιστή, εστιάζοντας σε τρία διαφορετικά θέματα: κύηση / πρόωρο τοκετό, σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου / IBD και διαβήτη τύπου 2 (Proctor et al., 2019). Το HMP αξιολόγησε την ποικιλομορφία της μικροβιακής ύλης σε πολλαπλές θέσεις του σώματος σε υγιή άτομα, συμπεριλαμβανομένης της γαστρεντερικής οδού (GI), για τον προσδιορισμό της βασικής σύνθεσης του υγιούς ανθρώπινου μικροβιώματος. Η αλληλουχία μεγάλης κλίμακας για μετααναλύσεις παρήγαγε 16S δεδομένα rRNA από 690 δείγματα, προερχόμενα από 300 άτομα και 15 σημεία του σώματος. Το HMP δημιούργησε επίσης έναν κατάλογο μικροβιακών γονιδιωμάτων από το ανθρώπινο μικροβίωμα, το οποίο αποτελείται

από περίπου 6.000 ομάδες λειτουργικών γονιδίων αναφοράς από πολλαπλές περιοχές σώματος μέχρι σήμερα. Και οι δύο κοινοπραξίες παρείχαν ένα εξαιρετικά πολύτιμο μικροβιακό κατάλογο που υπογραμμίζει τη σημαντική διακύμανση των μικροβιακών ειδών και των γονιδίων στο έντερο. Επιπλέον, μαζί με άλλες, αυτή η εργασία βοηθά στην κατανόηση της σύστασης ενός «υγιούς» μικροβιακά εντέρου, ενώ αποκαλύπτει νέες πιθανές συσχετίσεις μεταξύ των μικροβίων του εντέρου και των παθήσεων του γαστρεντερικού. Μπορούν να προβλεφθούν πολλά αποτελέσματα του HMP: για παράδειγμα, νέοι διαγνωστικοί βιοδείκτες υγείας, φαρμακοποιία του 21ου αιώνα που περιλαμβάνει μέλη του ανθρώπινου μικροβιώματος και χημικούς αγγελιοφόρους που παράγουν, και βιομηχανικές εφαρμογές που βασίζονται σε ένζυμα που παράγονται από το μικροβίωμα που μπορεί να επεξεργάζεται συγκεκριμένα υποστρώματα. Ένα σημαντικό αποτέλεσμα αναμένεται να είναι μια βαθύτερη κατανόηση των διατροφικών απαιτήσεων των ανθρώπων. Αυτό, με τη σειρά του, αυξάνει τις πιθανότητες εύρεσης νέων συστάσεων της παραγωγής, διανομής και κατανάλωσης τροφίμων που διατυπώνονται με βάση τη γνώση του μικροβιώματος.

*Εικόνα 6. Τι είναι γνωστό και τι άγνωστο σε σχέση με το μικροβίωμα του ανθρώπου*



*Πηγή: /Thomas AM, Segata N. Multiple levels of the unknown in microbiome research. BMC Biol. 2019; 17(1):48. doi: 10.1186/s12915-019-0667-z./*

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΤΟ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΙ Η ΥΓΕΙΑ**

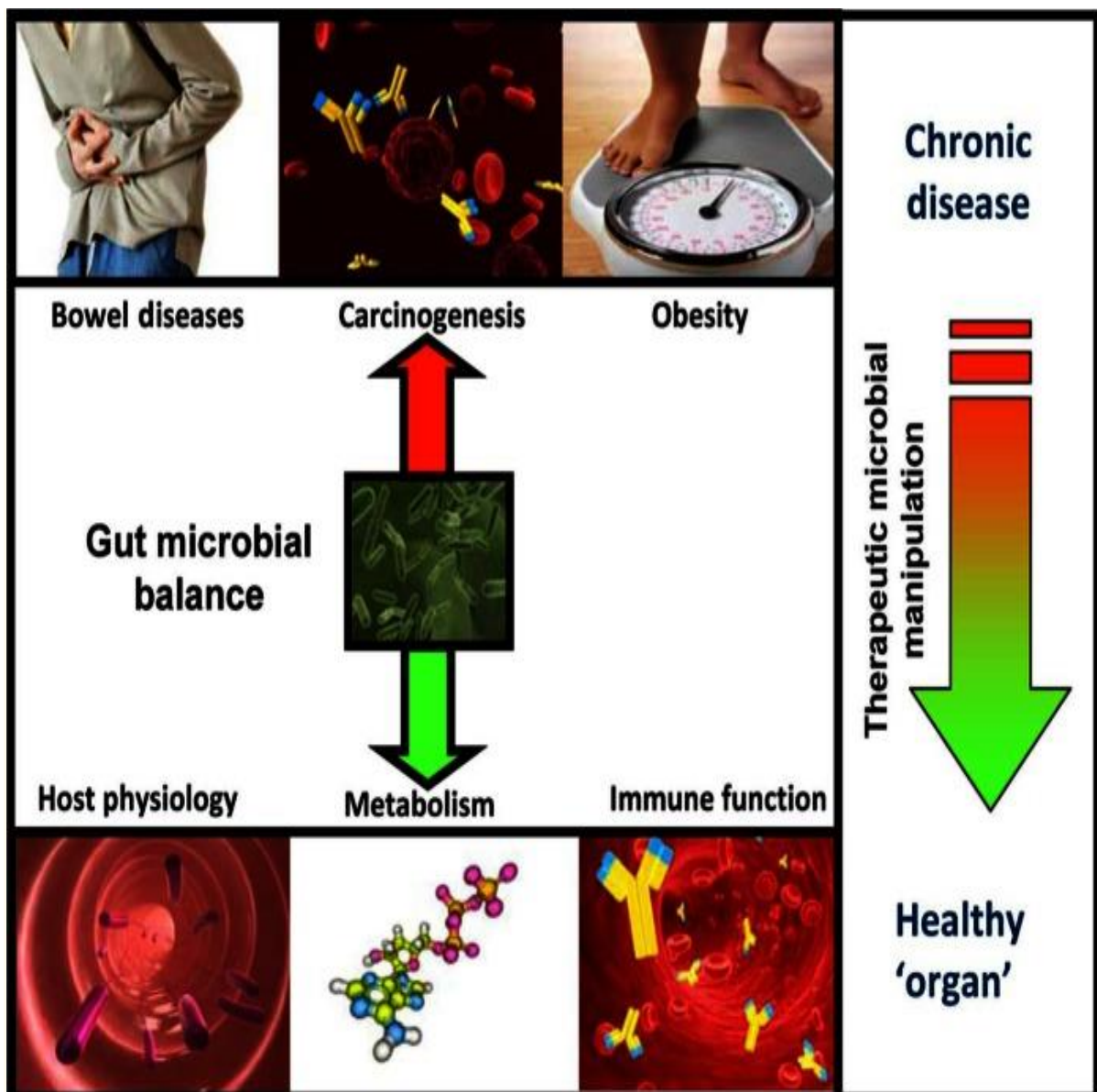
## 2.1 Ο υγιής μικροβιακός ιστός του εντέρου

Ο Ιπποκράτης έχει επισημάνει από την αρχαιότητα ότι η δυσπεψία είναι η ρίζα όλων των ταλαιπωριών, και ιστορικά, η σύνδεση μεταξύ των εντερικών μικροβίων και της υγείας προτάθηκε από τον Metchnikoff το 1907, που τόνισε ότι η αντικατάσταση των «σηπτικών» βακτηρίων στο έντερο με βακτήρια που παράγουν γαλακτικό οξύ θα βοηθήσει το έντερο να λειτουργεί αποτελεσματικότερα επεκτείνοντας το προσδόκιμο ζωής.

Είναι γνωστό ότι η εντερική μικροβιακή ισορροπία σε υγιή άτομα μπορεί να προσφέρει αρκετά οφέλη για την υγεία, όπως προστασία από λοιμώξεις, διατροφή, μεταβολισμό του ξενιστή και ανοσολογική ρύθμιση. Ιστορικά, αναλύσεις έχουν δείξει ότι τα έντερα υγιών ενηλίκων έχουν βακτηριακά είδη, κοινά στους περισσότερους ανθρώπους. Αντίθετα, η εφαρμογή της πρόσφατα αναπτυγμένης τεχνολογίας έχει προωθήσει την μελέτη της εντερικής χλωρίδας ανεξάρτητα από την καλλιέργεια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπάρχει μεγάλη αναλογία διατομικής μικροβιακής ποικιλομορφίας και η φυλογενετική αλληλεπικάλυψη μεταξύ των ανθρώπων είναι μικρή. Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι πολλές μελέτες που βασίζονται στο (High-throughput Sequencing / HTS) και στοχεύουν στην περιγραφή της φυσιολογικής μικροβιακής κοινότητας του γαστρεντερικού σωλήνα, είχαν διαφορές στα δεδομένα που αναλύθηκαν, ως προς την υγεία, την ηλικία, την τοποθεσία και τη διατροφή στις συγκεκριμένες μοριακές μεθόδους. Ωστόσο, έχει αποδειχθεί ότι η μικροβιακή κοινότητα σε ένα άτομο έχει διαχρονική συνολική σταθερότητα, η οποία δείχνει την παρουσία ενός βασικού πυρήνα του μικροβιακού πληθυσμού. Πολλοί παράγοντες όπως γήρανση, διατροφή, χρήση αντιβιοτικών και άλλοι παράγοντες του περιβάλλοντος, μπορεί να προκαλέσουν αλλαγές (Inna Sekirov et al., 2010). Η μικροχλωρίδα του εντέρου μπορεί να μεταβληθεί καθ' όλη τη διάρκεια που ζει το άτομο, ενώ επηρεάζει περισσότερο τον οργανισμό του ανθρώπου κατά την μεταγεννητική περίοδο. Τα βρέφη πιστεύεται γενικά ότι γεννιούνται με έντερο που είναι αποστειρωμένο ή που περιέχει το πολύ έναν μικρό αριθμό μικροβίων. Εντούτοις, η γαστρεντερική οδός βρίσκεται γρήγορα αποικισμένη μετά τη γέννηση, ενώ καθοριστικό παράγοντα στην αρχική σύνθεση του μικροβιώματος διαδραματίζει και ο τρόπος που γεννήθηκε το άτομο (φυσιολογικός τοκετός ή καισαρική τομή). Σε γέννα με φυσιολογικό τοκετό το έμβρυο έρχεται σε επαφή με τον κόλπο της μητέρας και ενδεχομένως με την μικροχλωρίδα του εντέρου της (μητρικός ενοφθαλμισμός), ενώ σε περίπτωση καισαρικής τομής το έμβρυο εκτίθεται αρχικά στα μικρόβια που παρατηρούνται στο δέρμα και στο νοσοκομειακό περιβάλλον (Grönlund et al., 1999). Η σύσταση του εντερικού μικροβιώματος στα βρέφη μπορεί να ποικίλει σημαντικά με βάση διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου του τρόπου χορήγησης της τροφής (Harmsen et al., 2000), του τύπου

διατροφής ή της χρήσης αντιβιοτικών, πρεβιοτικών ή προβιοτικών. Οι πρώτοι αποικιστές του εντέρου περιλαμβάνουν εντερόκοκκους, που ακολουθούνται από αναερόβιους οργανισμούς και αναερόβιους στρεπτόκοκκους. Το γαστρεντερικό μικροβίωμα παίζει ρόλο στη φυσιολογία, το μεταβολισμό και τη διατροφή του ξενιστή. Μια αλλοίωση της μικροβιακής κοινότητας του εντέρου συνδέεται με μια σειρά εντερικών καταστάσεων, όπως ο καρκίνος, η παχυσαρκία και μια ποικιλία διαταραχών του εντέρου. Η συμβολή των ευεργετικών συστατικών του μικροβιώματος του εντέρου στη φυσιολογία, τον μεταβολισμό και την ανοσολογική λειτουργία του ξενιστή έχει γίνει όλο και περισσότερο αντικείμενο προσοχής και αναμφισβήτητα θα οδηγήσει σε νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

*Εικόνα 7. Το εντερικό μικροβίωμα στην υγεία και στην εντερική νόσο*

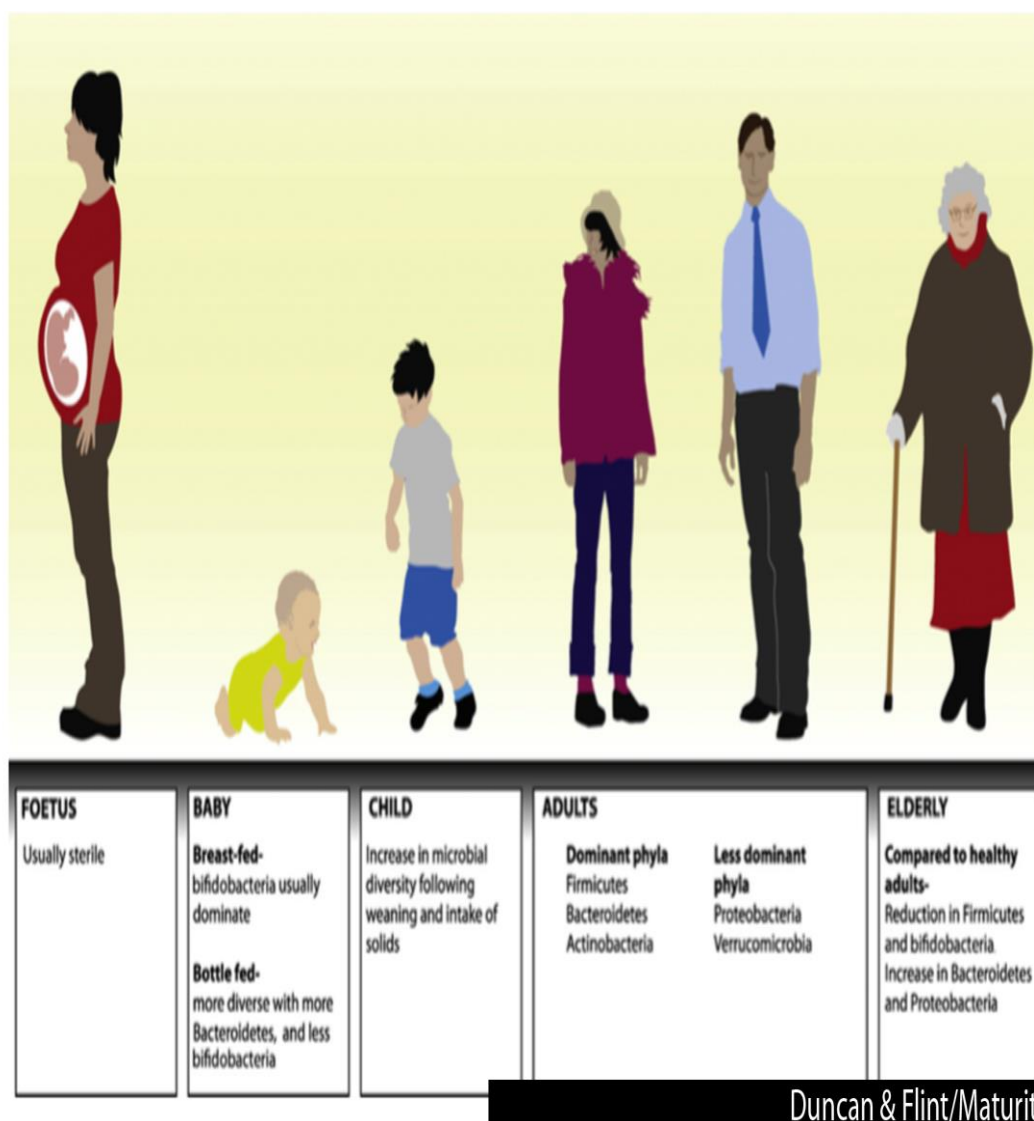


Πηγή: <https://www.slideshare.net/mikesorg/human-nutrition-gut-microbiome-and-immune-system/>

## 2.2 Μητρικό γάλα, γήρανση και εντερικό μικροβίωμα

Το μητρικό γάλα, παίζει ιδιαίτερο ρόλο τόσο στο να διαμορφωθεί η εντερική χλωρίδα όσο και στο να προστατευτεί το νεογνό από λοιμώξεις. Ο αδένας του μαστού αποτελεί κέντρο του λεμφικού συστήματος και περιέχει πληθώρα ανοσολογικών κυττάρων του εντέρου (εντερο-μαστικός άξονας/ entero-mammary axis), με αποτέλεσμα οι εκκρίσεις του μαστού να περιλαμβάνουν ανοσοσφαιρίνες IgA. Το μητρικό γάλα επίσης εμπεριέχει εκτός από τα αντισώματα και άλλους παράγοντες, όπως την καζεΐνη που με τη διάσπασή της οδηγεί στην παραγωγή γλυκομακροπεπτιδίων και τη λακτοφερρίνη, που είναι υπεύθυνες για την προστασία του μη πλήρως αναπτυγμένου εντέρου του θηλάζοντος παιδιού από λοιμώδεις παράγοντες. Τέλος οι ορμόνες του μητρικού γάλακτος (λεπτίνη, αδιπονεκτίνη) επηρεάζουν μεταβολικές οδούς και υποστηρίζουν την ανάπτυξη και εξέλιξη του βρέφους που θηλάζει (Margit Hamosh, 2001). Το μητρικό γάλα δρα ως «λίπασμα» για τα βακτηρίδια, ευνοεί τον αποικισμό του νεογέννητου εντέρου από συγκεκριμένες βακτηριακές ομάδες που μπορούν να αφομοιώσουν ολιγοσακχαρίτες του μητρικού γάλακτος. Οι πολύπλοκοι ολιγοσακχαρίτες του γάλακτος που ευρίσκονται σε μεγαλύτερη ποσότητα στο πρωτόγαλα σε σχέση με το ώριμο γάλα, δεν μπορούν να αφομοιωθούν από το βρέφος που θηλάζει και φθάνουν στο παχύ έντερο, όπου αφομοιώνονται από επιλεγμένα βακτηριακά φύλα συμπεριλαμβανομένων των *Bifidobacterium spp.* και *Bacteroides spp.* Τα βακτήρια του εντέρου έχουν προτιμήσεις για συγκεκριμένους ολιγοσακχαρίτες του γάλακτος και ως εκ τούτου, ατομικές διακυμάνσεις στην περιεκτικότητα του μητρικού γάλακτος σε ολιγοσακχαρίτες μπορεί να επηρεάσουν το σχέδιο αποικισμού στο νεογνικό έντερο. Σε μια έρευνα για τη μικροχλωρίδα του πρωτογάλακτος, τα βακτήρια που εντοπίστηκαν κατά πλειοψηφία ήταν *Staphylococcus*, *Streptococcus* και *Lactobacillus*, τα οποία μπορεί να προέρχονται από το δέρμα του μαστού. Αντίθετα, από τον πρώτο μήνα έως τον έκτο μήνα μετά τη γέννηση, το γάλα που παράγεται μέσω του μαστού περιλαμβάνει βακτήρια που βρίσκονται στην στοματική κοιλότητα, τα οποία προέρχονται και από τη χλωρίδα της στοματικής κοιλότητας του νεογνού. Τα γαλακτικά βακτήρια είναι θετικά κατά Gram, συνήθως δυνητικά αναερόβια και είναι από τα πρώτα που εισέρχονται στο ανθρώπινο σώμα. Το *Lactobacillus* επηρεάζει τη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας του βρέφους μέσω της γαλακτικής ζύμωσης της γλυκόζης. Πρόκειται για μια αναερόβια μεταβολική διαδικασία που οδηγεί στην παραγωγή γαλακτικού οξέος και επηρεάζει την ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος. (Cabrera-Rubio et al., 2012). Η έρευνα σχετικά με τη μικροχλωρίδα του μητρικού γάλακτος και τις επιπτώσεις της στο σώμα των βρεφών μπορεί να οδηγήσει σε βελτιώσεις στα υποκατάστατα του μητρικού γάλακτος, απαιτώντας ενδεχομένως την προσθήκη ευεργετικών βακτηρίων.

*Εικόνα 8. Κυρίαρχα φύλα βακτηρίων στο εντερικό μικροβίωμα σε κάθε ηλικιακή φάση ζωής. Θηλασμός και μπουκάλι.*



*Πηγή: /Duncan SH, Flint HJ. Probiotics and prebiotics and health in ageing populations. Maturitas. 2013;75(1):44-50./*

Όπως σημειώθηκε παραπάνω, η διατομική διακύμανση εντός της ενδιάμεσης μικροχλωρίδας του εντέρου παρουσιάζει ποικιλομορφία. Οι Turnbaugh και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι το μικροβίωμα κοπράνων ακόμα και πανομοιότυπων δίδυμων (ομοζυγοτικών) είναι μικρότερο από το 50% όλων των φυλοτύπων διαφορετικών ειδών (Turnbaugh et Gordon, 2009). Περαιτέρω γνώσεις σχετικές με το είδος και τη σύσταση του εντερικού μικροβιώματος συλλέχθηκαν μέσω της γενωμικής ανάλυσης από 22 δείγματα DNA περιττωμάτων από άτομα σε τέσσερις χώρες. Καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι τρεις εντερότυποι απαρτίζουν το



ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα, και ποικίλουν σε σχέση με τη σύνθεση των μικροβιακών ειδών και το λειτουργικό τους δυναμικό (MetaHIT Consortium, 2011).

Το εντερικό μικροβίωμα των ηλικιωμένων ατόμων αποτελεί αντικείμενο αρκετών πρόσφατων ερευνών. Είναι ιδιαίτερα επίκαιρο, καθώς, η γήρανση του πληθυσμού γίνεται πλέον ένα γενικό χαρακτηριστικό των δυτικών χωρών που συνυπάρχει με την αύξηση του προσδόκιμου ζωής. Έχει παρατηρηθεί ότι υπάρχουν φυσιολογικές αλλαγές στο γαστρεντερικό σωλήνα των ηλικιωμένων, που χαρακτηρίζονται από ήπια χρόνια φλεγμονή, σχετική με την ηλικία, η οποία μπορεί να διαταράξει τη μικροβιακή ισορροπία στον εντερικό σωλήνα. Η ανάλυση HTS έδειξε ότι η σύσταση της χλωρίδας του εντέρου ηλικιωμένων ατόμων (> 65 ετών) διαφέρει από εκείνη των νέων, αν και οι διαφορές μεταξύ των ατόμων είναι μεγάλες, τα φύλλα της βακτηριακής κοινότητας που επικρατούν στους ηλικιωμένους είναι τα βακτηριοειδή. Οι μεταβαλλόμενες διαιτητικές συνήθειες είναι ο καθοριστικός παράγοντας, μέσω των οποίων διαμορφώνεται η εντερική μικροχλωρίδα η οποία στη συνέχεια επηρεάζει την υγεία των ηλικιωμένων. Σε μικρότερο βαθμό επιδρούν στο μικροβίωμα του εντέρου η επιδείνωση της λειτουργίας των οδόντων και των σιελογόνων αδένων, της πέψης και της διέλευσης των τροφών από το έντερο, καθώς και η φλεγμονή. Η σχέση αυτή τεκμηριώθηκε περαιτέρω από τη μελέτη των Claesson και συνεργατών οι οποίοι ανέδειξαν ότι τα άτομα στην κοινότητα είχαν αυξημένα επίπεδα Firmicutes. Αντίθετα η μικροβιακή χλωρίδα των ατόμων σε περιβάλλον φροντίδας μακράς διαμονής περιείχε μεγάλο ποσοστό βακτηριοειδών (Claesson et al., 2017). Ειδικότερα, η μικροβιακή περιεκτικότητα σε άτομα με μακροχρόνια περίθαλψη ήταν σημαντικά λιγότερο διαφοροποιημένη και η αυξημένη μείωση των μικροβίων που συγκρίθηκε με τα άτομα από την κοινότητα συσχετίστηκε με αυξημένη ευθραυστότητα των οικοσυστημάτων του εντέρου αυτών των ατόμων (Ticinesi et al., 2019). Αυτή, όπως και άλλες εργασίες υποδηλώνουν έντονα ότι η μικροβιακή σύνθεση αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την υγεία, τη πορεία των ασθενειών και την ευπάθεια (frailty) σε ηλικιωμένους ανθρώπους. Ανεξάρτητα από την ηλικία, η ανάπτυξη μιας σαφέστερης κατανόησης της σύστασης μιας υγιούς μικροβιακής μονάδας επιτρέπει να διαπιστωθεί, αν μη τι άλλο, τι είναι ασυνήθιστο στο μικροβίωμα ασθενών με διάφορες ασθένειες.

Μελλοντικά θεωρείται εφικτό να ρυθμιστεί η εντερική μικροχλωρίδα μέσω κατάλληλων διαιτητικών ή φαρμακευτικών παρεμβάσεων, με σκοπό να εκδηλώνεται μικρότερος αριθμός νοσημάτων κατά τη γήρανση. Θα είχε ιδιαίτερη σημασία να εντοπιστούν ηλικιωμένα άτομα, των οποίων η εντερική χλωρίδα δεν έχει την προδιάθεση για υγιές γήρας. Αυτό δύναται να

πραγματοποιηθεί με την ανάλυση του προφίλ της μικροχλωρίδας, με την μεταβολομική ανάλυση και χρήση κατάλληλων βιοδεικτών.

**Εικόνα 9. Μεταβολές της χλωρίδας του εντέρου του ανθρώπου σε διάφορες ηλικίες. Φυσιολογικός τοκετός και καισαρική.**

Νεογνική ηλικία		Παιδική ηλικία	Ενήλικες	Ηλικιωμένοι
<p>Η μικροχλωρίδα εξαρτάται από τον τρόπο γέννησης</p>		<p>Νέα στελέχη αντικαθιστούν παλαιότερα</p>	<p>Σχετικά σταθερή σύνθεση μικροχλωρίδας σε κάθε άτομο</p>	
<p>Φυσιολογικός τοκετός</p>	<p>Καισαρική</p>	<p>Αύξηση της ποικιλίας</p>	<p>Διαφοροποιημένη μικροχλωρίδα μεταξύ ατόμων</p>	<p>Σημαντικά διαφοροποιημένες μικροχλωρίδες σε σχέση με νεότερες ηλικίες</p>
<p>Η μικροχλωρίδα από τη μητέρα:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lactobacillus</li> <li>• Prevotella</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Staphylococcus</li> <li>• Corynebacterium</li> <li>• Propionibacterium</li> </ul> <p>• Ευπάθεια σε παθογόνα</p> <p>• Κίνδυνος αλλεργικών νοσημάτων</p>	<p>Πρώιμη μικροβιοτική ανάπτυξη = υψηλού βαθμού αστάθεια</p> <p>Μεταβολές λόγω διατροφής ή νόσου</p>	<p>Η μικροχλωρίδα μεταβάλλεται αλλά με μικρότερο ρυθμό από ό,τι στην παιδική ηλικία</p>	

**Πηγή:** /(*Human enteric microbiome: Its role in health and disease*, A.F.A. MENTIS, F. GYPAS, A.F. MENTIS, *Archives of Hellenic Medicine* 2013, 30(3):272–288/

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ: ΔΥΣΒΙΩΣΗ ΚΑΙ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΑΝΤΙΣΤΑΣΕΩΝ**

### 3.1 Η επίδραση των αντιβιοτικών στο μικροβίωμα

Αρκετές σειρές αποδεικτικών στοιχείων επιβεβαιώνουν ότι η χορήγηση αντιβιοτικών μπορεί να οδηγήσει σε θανάτωση μικροβίων στο έντερο, δηλαδή διαταραχή της σύνθεσης και της λειτουργίας του μικροβιώματος. Τα αντιβιοτικά ευρέος φάσματος μπορούν να επηρεάσουν τη συγκέντρωση του 30% των βακτηρίων στην εντερική χλωρίδα, με αποτέλεσμα μια γρήγορη και σημαντική μείωση του πλούτου, της ποικιλομορφίας και της ομαλότητας της ταξινόμησης. Μετά τη διακοπή της θεραπείας με αντιβιοτικά, τα μικρόβια μπορεί να δείξουν κάποιο βαθμό αντοχής στα φάρμακα και μπορεί να επιστρέψουν σε μια σύνθεση παρόμοια με την πρωταρχική, αλλά τα αρχικά βακτήρια συνήθως δεν μπορούν να ανακτηθούν πλήρως. Στην πραγματικότητα, οι αλλοιώσεις μικροβιωμάτων που προκαλούνται από αντιβιοτικά μπορούν να παραμείνουν μετά από μεγάλες χρονικές περιόδους, για μήνες ακόμη και χρόνια (Dethlefsen et Relman, 2011). Σε βρέφη, αρκετές μελέτες κατέδειξαν το βαθμό στον οποίο η ανάπτυξη μικροβίων στο έντερο επηρεάζεται από την πρόωμη έκθεση σε αντιβιοτικά, εκτός από τη μεγάλη επίδραση αυτής της διαδικασίας στη δια βίου υγεία. Ο Tanaka μελέτησε τη μικροβιακή κατάσταση των βρεφών που έλαβαν αντιβιοτικά κατά τις πρώτες ημέρες της ζωής τους και ανέφερε τα αποτελέσματα μέσα σε 1 εβδομάδα και εντός 2 μηνών μετά τη γέννηση. Η πρόωμη έκθεση σε αντιβιοτικά μείωσε τόσο την ποικιλία των μικροβιωμάτων των βρεφών όσο και άλλαξε τη σύνθεσή τους, με εξασθένηση του *Bifidobacterium* και έντονη αύξηση των *Proteobacteria*. Επιπλέον, η μικροβιακή ποσότητα των βρεφών που δεν είχαν υποβληθεί σε αγωγή, αλλά των οποίων οι μητέρες έλαβαν αντιβιοτικά πριν από τον τοκετό εμφάνισαν τις ίδιες αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν στο μικροβίωμα των βρεφών που έλαβαν θεραπεία (Tanaka et al., 2009).

Ο αντίκτυπος των αντιβιοτικών στο εντερικό μικροβίωμα έχει ερευνηθεί πιο πρόσφατα μέσω της ποικιλίας των τεχνικών "omic" που είναι διαθέσιμες σήμερα για αναλύσεις της μικροβιακής κοινότητας. Αυτές οι εργασίες έχουν δείξει ότι, πέρα από τη μεταβολή της σύνθεσης-ταξινομικές διαφορές, τα αντιβιοτικά επηρεάζουν επίσης την έκφραση των γονιδίων, τη δραστηριότητα των πρωτεϊνών και το συνολικό μεταβολισμό των μικροβίων του εντέρου. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να εμφανιστούν με πολύ ταχύτερο ρυθμό από εκείνες που συνεπάγονται την αντικατάσταση των ταξινομικών ειδών μικροβίων στην κοινότητα. Επιπλέον, οι επαγόμενες αλλαγές μπορούν να οδηγήσουν τη λειτουργικότητα της μικροχλωρίδας προς καταστάσεις όμοιες με εκείνες που παρατηρούνται υπό συνθήκες ασθένειας (Perez-Cobas et al., 2012). Σε αυτή την κατεύθυνση, ο μικροβιότυπος των ατόμων που υποβάλλονται σε αγωγή με β-λακτάμες έχει μία ποικιλομορφία ενζυματικών ενεργειών για την αποικοδόμηση των υδατανθράκων που οδηγεί σε μη ισορροπημένο μεταβολισμό των

σακχάρων, παρόμοιο με αυτό που παρατηρείται σε παχύσαρκα άτομα (Hernandez et al., 2013). Οι πειραματικές προσεγγίσεις επιβεβαίωσαν επίσης ότι τα αντιβιοτικά μεταβάλλουν ταχέως την φυσιολογική κατάσταση και τη δραστικότητα του μικροβιώματος του εντέρου. Σε ex vivo επώαση δειγμάτων κοπράνων με διαφορετικά αντιβιοτικά, παρατηρήθηκε αύξηση της αναλογίας των κυττάρων του μικροβιώματος του εντέρου με κατεστραμμένες μεμβράνες. Όχι μόνο ποικίλλουν οι δραστικοί πληθυσμοί της μικροβιακής σύνθεσης, αλλά παρατηρήθηκε επίσης αυξημένη έκφραση στα γονίδια που εμπλέκονται στην αντοχή στα αντιβιοτικά, την απόκριση στο στρες και την επαγωγή φαγοκυττάρων (Maurice et al., 2013). Επιπλέον, η έκφραση αυξήθηκε επίσης για τα γονίδια που σχετίζονται με την επεξεργασία γενετικών πληροφοριών (π.χ. μεταγραφή και μετάφραση) στην περίπτωση αντιβιοτικών που αναστέλλουν τη μετάφραση, όπως η τετρακυκλίνη και τα μακρολίδια. Τα ουσιαστικά αποτελέσματα που τεκμηριώνονται για το ρόλο των αντιβιοτικών στη διαταραχή της λειτουργίας του μικροβιώματος του εντέρου, υπογραμμίζουν τις πιθανές επιπτώσεις που θα έχει η έκθεση σε αντιβιοτικά στις φυσιολογικές διεργασίες που εξαρτώνται από τις δραστηριότητες που ασκούν τα μικρόβια στην κοινότητα αυτή.

### **3.2 Αυξημένη ευαισθησία στις λοιμώξεις**

Μία από τις πιο άμεσες απειλές, των μεταβολών του μικροβιώματος στο έντερο είναι η αυξημένη ευαισθησία σε εντερικές λοιμώξεις, οι οποίες μπορεί να προέρχονται από νεοαποκτηθέντα παθογόνα ή από την ξαφνική υπερανάπτυξη και την παθογόνο συμπεριφορά των δυνητικά παθογόνων μικροοργανισμών που υπάρχουν ήδη στο μικροβίωμα. Συγκεκριμένα, οι συσχετισμένες με αντιβιοτικά διάρροιες (antibiotic-associated diarrheas - AAD) λόγω νοσοκομειακών παθογόνων εμφανίζονται συχνά. Αυτά συχνά συσχετίζονται με μικροοργανισμούς, όπως η *Klebsiella pneumoniae*, ο *Staphylococcus aureus* και, το περισσότερο ανησυχητικό, *Clostridium difficile*, που μπορεί να προκαλέσει δυσμορφίες, μακροχρόνιες υποτροπιάζουσες λοιμώξεις, ακόμη και δυνητικά θανατηφόρο ψευδομεμβρανώδη κολίτιδα (Sekirov et al., 2010, Chen et al., 2013).

Επιπλέον, η λοίμωξη του αίματος στα ανοσοκατασταλμένα άτομα είναι άλλη μία απειλητική για τη ζωή κατάσταση, της οποίας αυξάνεται ο κίνδυνος λόγω της θεραπείας με αντιβιοτικά. Στην κλινική πράξη η εντερική κυριαρχία με ανθεκτικό στην βανκομυκίνη *Enterococcus* έχει αποδειχθεί ότι προηγείται της λοίμωξης του αίματος από αυτό το παθογόνο και η πειραματική εργασία σε ποντίκια έχει δείξει ότι η αντιβιοτική θεραπεία καθορίζει το

στάδιο της εντερικής ανάπτυξης αυτού του βακτηρίου (Ubeda et al., 2010). Σε πρόωρα βρέφη, τα οποία υποβάλλονται σε βαριά αγωγή με αντιβιοτικά ευρέος φάσματος, ο κίνδυνος σήψης σχετίζεται επίσης με τη σύσταση του εντερικού μικροβιώματος και τη χρονική διάρκεια της αντιβιοτικής αγωγής (Mai et al., 2013).

### **3.3 Ανοσολογική ομοιότητα και ανοχή**

Οι αλλοιώσεις του μικροβιώματος που προκαλούνται από τα αντιβιοτικά, πέρα από την αύξηση του άμεσου κινδύνου μόλυνσης, μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη βασική ανοσολογική ομοιότητα με συνολικές σωματικές και μακροχρόνιες επιπτώσεις. Οι ατοπικές, φλεγμονώδεις και αυτοάνοσες ασθένειες έχουν συνδεθεί με τη δυσβίωση μικροβιωμάτων στο έντερο και σε μερικές περιπτώσεις έχουν καταγραφεί σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ αυτών των ασθενειών και της χρήσης αντιβιοτικών στο διάστημα της πρώιμης ζωής. Σαφώς, οι συνέπειες της δυσβίωσης που προκαλείται από τα αντιβιοτικά θα είναι ακόμη πιο σημαντικά εάν εμφανιστούν νωρίς στη ζωή, μια κρίσιμη περίοδο για την ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος και τη δημιουργία ανοσολογικής ανοχής (Francino, 2014).

Στην περίπτωση των ατοπικών νόσων, πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει συσχετίσεις με τη σύνθεση και τη σύσταση του μικροβιώματος του εντέρου κατά τη βρεφική και την πρώιμη παιδική ηλικία. Πιο επανειλημμένα, έχει ανιχνευθεί σημαντική συσχέτιση με ανεπάρκεια bifidobacteria. Ωστόσο, αυτή η συσχέτιση δε βρέθηκε σε δύο μεγάλες προοπτικές μελέτες (case-control) περιπτώσιολογικού ελέγχου (Murray et al., 2005, Penders et al., 2006). Δεδομένου ότι δεν έχουν όλα τα είδη Bifidobacterium προστατευτικό ρόλο, αυτές οι αποκλίσεις μεταξύ των μελετών θα μπορούσαν να οφείλονται στην παρουσία διαφορετικών bifidobacteria σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, εκτός από την πιθανή συμβολή της γενετικής ποικιλότητας μεταξύ των ανθρώπινων πληθυσμών. Από την άλλη πλευρά, οι υψηλές συγκεντρώσεις μικροοργανισμών, όπως το Clostridium coccoides και Escherichia coli, καθώς και μικροβίωμα χαμηλής ποικιλότητας, έχουν επίσης επανειλημμένα συνδεθεί με την παρουσία διαφορετικών ατοπικών νόσων. Αυτές οι συσχετίσεις υποδεικνύουν ότι η πρώιμη χρήση αντιβιοτικών πιθανώς να αυξάνει τον κίνδυνο για ατοπική νόσο, αλλά η ύπαρξη τέτοιας συσχέτισης είναι αμφιλεγόμενη. Οι αναδρομικές επιδημιολογικές μελέτες υποστηρίζουν γενικά αυτή τη συσχέτιση, αλλά οι περισσότερες προοπτικές αναλύσεις δεν το επιβεβαιώνουν. Παρόλα αυτά, η εφαρμογή τεχνικών που στοχεύουν στη μείωση πιθανών

μεροληψιών και συγχυτικών επιδράσεων είχε ως αποτέλεσμα την ανίχνευση δοσοεξαρτώμενων συσχετίσεων μεταξύ του άσθματος και της πρώιμης έκθεσης σε αντιβιοτικά σε διάφορες προοπτικές μελέτες (Marra et al., 2009). Επιπλέον, τα αντιβιοτικά ευρέος φάσματος δείχνουν ισχυρότερη συσχέτιση με το άσθμα, υποδεικνύοντας ότι η μείωση της βακτηριδιακής ποικιλότητας στο μικροβίωμα είναι πιθανό να συμβάλλει στην επίδραση των αντιβιοτικών στην ανάπτυξη του άσθματος. Εκτός από το άσθμα, άλλες αντιδράσεις, όπως η εκδήλωση αλλεργίας στην ηλικία των έξι (6) ετών ζωής, συσχετίστηκαν πρόσφατα με την πρόωρη λήψη αντιβιοτικών (Risnes et al., 2011). Ομοίως, ο κίνδυνος για αρκετές ατοπικές ασθένειες αυξάνεται, με τρόπο δοσοεξαρτώμενο, όταν η μητέρα λαμβάνει αντιβιοτικά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, (Jedrychowski et al., 2006).

Η σύνθεση των μικροβίων του εντέρου έχει συνδεθεί επίσης με πολυάριθμες διαταραχές που περιλαμβάνουν διαδικασίες φλεγμονής και αυτοανοσίας. Αυτή είναι η περίπτωση της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας (necrotizing enterocolitis - NEC), μιας καταστροφικής φλεγμονώδους νόσου για τα νεογνά. Μια χαμηλή συγκέντρωση του *Bifidobacterium*, που συνοδεύεται από μια γενικά χαμηλή βακτηριακή ποικιλομορφία, έχει ανιχνευθεί πριν από την έναρξη της NEC. Οι πληθυσμοί που εκτίθενται σε αντιβιοτικά, όπως τα πρόωρα βρέφη και τα βρέφη των οποίων οι μητέρες λαμβάνουν αντιβιοτικά για να αναβάλλουν τον τοκετό, παρουσιάζουν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης NEC. Η νόσος του Crohn (CD), μια άλλη φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (Inflammatory Bowel Disease - IBD), επίσης αυξάνεται στα παιδιά που λαμβάνουν αντιβιοτικά πριν από την ηλικία των πέντε (5) ετών. Αυτή η ασθένεια ήταν μία από τις πρώτες, για τις οποίες διαπιστώθηκε σαφής συσχέτιση με το μικροβιακό φορτίο του εντέρου του ανθρώπου με μεταγονιδιωματικές αναλύσεις, μέσω της μείωσης των Firmicutes (ιδιαίτερα του *C. leptum*) και της αύξησης ορισμένων Gram-αρνητικών βακτηριδίων (*Porfiromonadaceae*) συχνά υπεύθυνων για φλεγμονώδη διαδικασίες (Manichanh et al., 2006). Στην περίπτωση του συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου (Irritable Bowel Syndrome - IBS), που είναι η πιο συνηθισμένη λειτουργική γαστρεντερική διαταραχή στις δυτικές χώρες, έχουν επίσης ανακαλυφθεί αλλοιώσεις στο μικροβιακό φορτίο του εντέρου. Αν και δεν έχει επιτευχθεί συναίνεση σχετικά με τη σχέση μεταξύ συγκεκριμένων βακτηριδίων και IBS, η μικροβιακή συγκέντρωση σε ασθενείς με IBS έχει μειωμένη ποικιλομορφία. Επιπλέον, το IBS ακολουθεί συχνά περιόδους γαστρεντερικής λοίμωξης και υπάρχουν στοιχεία που υποδηλώνουν ότι τα αντιβιοτικά μπορεί να παίζουν ρόλο στην παθογένεση της διαταραχής (Mendall et Kumar, 1998).

### **3.4 Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων οι αλλαγές στο μικροβίωμα επηρεάζουν το ανοσοποιητικό σύστημα και το μεταβολισμό**

Εκτός από τις άμεσες οικολογικές επιδράσεις τους στη σύνθεση των μικροβίων του εντέρου, τα αντιβιοτικά επηρεάζουν τον τρόπο με τον οποίο αυτή η κοινότητα αλληλεπιδρά με τον ξενιστή και ρυθμίζει τις βασικές φυσιολογικές διεργασίες. Όσον αφορά την αποτελεσματικότητα του ανοσοποιητικού συστήματος στην καταπολέμηση των λοιμώξεων, τα αντιβιοτικά μεταβάλλουν έμμεσα την ικανότητα τόσο των έμφυτων όσο και των προσαρμοστικών ανοσολογικών αποκρίσεων. Καθώς αλλάζει η μικροβιακή σύνθεση, χάνονται όχι μόνο μη ανθεκτικοί οργανισμοί που είναι ικανοί να απομακρύνουν τα δυνητικά παθογόνα, αλλά η αλλοιωμένη κοινότητα θα παρουσιάσει μία ουσιαστικά διαφορετική ποικιλία σχετιζόμενη με τα μικροβιακά μοριακά πρότυπα (microbial-associated molecular patterns - MAMPS) στους υποδοχείς που βρίσκονται σε ανοσοποιητικά και επιθηλιακά κύτταρα. Αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα την αλλοιωμένη διέγερση υποδοχέων, όπως οι υποδοχείς Nucleotide Oligomerization Domain 1 (NOD1) και οι υποδοχείς τύπου Toll (TLRs), οι οποίοι μπορούν να οδηγήσουν σε μια ποικιλία ανοσοποιητικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της ανάπτυξης λεμφοειδούς ιστού, διαφοροποίησης των T κυττάρων, προσέλκυσης ουδετερόφιλων, απελευθέρωσης αντιβιοτικών και κυτοκινών (Ubeda and Pamer, 2012). Μια σειρά πειραμάτων σε ποντίκια έχουν δείξει ότι η θεραπεία με αντιβιοτικά μπορεί να μειώσει την ικανότητα καταπολέμησης μολύνσεων από Gram-θετικούς οργανισμούς, μειώνοντας την έκφραση βακτηριοκτόνων ενώσεων και μειώνοντας τη θανάτωση που προκαλείται από τα ουδετερόφιλα. Στην περίπτωση του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος, τόσο η έκφραση των γονιδίων του συμπλέγματος κύριας ιστοσυμβατότητας (Major Histocompatibility Complex) στο λεπτό και το παχύ έντερο όσο και τα επίπεδα της ανοσοσφαιρίνης G (IgG) στον ορό έχει αποδειχθεί ότι μειώνονται ως ανταπόκριση στις μεταβολές μικροβίων που προκαλούνται από την αμοξικιλίνη (Dufour et al., 2005).

Από την άλλη πλευρά, οι κυτταρικοί και μοριακοί μηχανισμοί, με τους οποίους οι μεταβολές του μικροβιώματος επηρεάζουν την ανοσολογική ανοχή, έχουν συζητηθεί προ πολλού. Η ισορροπία μεταξύ των υποσυνόλων των βοηθητικών κυττάρων Th1 και Th2 του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος θεωρήθηκε μέχρι πρόσφατα ως η κύρια προϋπόθεση για τη διατήρηση της ανοσοποιητικής ομοιόστασης. Για την υποστήριξη αυτής της έννοιας, είναι γνωστό ότι οι χρόνιες φλεγμονώδεις / αυτοάνοσες και αλλεργικές ασθένειες συνδέονται σημαντικά με υπερβολική ενεργοποίηση των Th1 ή Th2 κυττάρων,



αντίστοιχα. Παρόλα αυτά, σημαντικοί ρόλοι για τα Th17 λεμφοκύτταρα και τα ρυθμιστικά T κύτταρα (Tregs) έχουν αποδειχθεί σε ασθένειες που είχαν χαρακτηριστεί κλασικά ως Th1 ή Th2 σχετιζόμενες. Σύμφωνα με την τρέχουσα άποψη, υπάρχει μια νέα κυτταρική ισορροπία που θεωρείται κρίσιμη για την ανοσοποιητική ομοιόσταση: μεταξύ των Tregs και των τελεστικών κυττάρων τους και των διαφορετικών Th υποσυνόλων. Οι μεταβολές του μικροβιώματος στο έντερο διαταράσσουν αυτή την ισορροπία, με αποτέλεσμα την απορρύθμιση των ανοσολογικών αποκρίσεων που μπορούν να προωθήσουν μια ποικιλία αποτελεσμάτων νόσησης (Shen X. et al., 2014).

Η παραγωγή Tregs έχει πράγματι φανεί ότι εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ του μικροβιώματος του εντέρου και του ανοσοποιητικού συστήματος. Πειράματα σε ποντικούς ή σε *in vitro* κυτταρικές καλλιέργειες έχουν αποκαλύψει διαφορετικά ειδικά βακτηρίδια και βακτηριακά προϊόντα που είναι ικανά να επαγάγουν κύτταρα Treg. Για παράδειγμα, τα είδη *Bacteroides fragilis* και *Clostridium* που ανήκουν στις φυλογενετικές ομάδες IV και XIV προάγουν τη διαφοροποίηση των T κυττάρων σε Tregs σε ποντικούς. Αντίθετα, τα τεμαχισμένα νηματώδη βακτήρια (Segmented Filamentous Bacteria - SFB) μάλλον προάγουν τη διαφοροποίηση των προ-φλεγμονωδών Th17 κυττάρων (Ivanov et al., 2009). Αυτό τονίζει τη βασική ιδέα ότι διαφορετικά μικρόβια οδηγούν στη διαφοροποίηση των ανώριμων T κυττάρων σε διαφορετικούς υποτύπους. Στους ανθρώπους, ωστόσο, νηματοειδή βακτήρια - SFB δεν απαντώνται συχνά στο μικροβίωμα του εντέρου και αυτά τα βακτήρια πιθανώς δεν παίζουν κανένα ρόλο (Ehrlich S.D., The MetaHIT Consortium, 2011).

Οι οδοί διαμέσου των οποίων, οι αλλοιώσεις μικροβίων, που προκαλούνται από αντιβιοτικά, που διαταράσσουν την ισορροπία μεταξύ των κυττάρων T και την ανοσολογική ομοιόσταση, διερευνώνται σε πειραματικά μοντέλα ποντικών. Η βανκομυκίνη, η οποία σκοτώνει θετικά κατά Gram βακτήρια, έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί τη μείωση του αριθμού των Tregs στο βλεννογόνο του εντέρου και την εξασθένηση της επαγωγής των Th17 κυττάρων (Atarashi et al., 2011). Από την άλλη πλευρά, ένα κοκτέιλ αντιβιοτικών που χορηγήθηκε σε ποντίκια ηλικίας δύο εβδομάδων οδήγησε σε μειωμένη έκφραση των υποδοχέων τύπου Toll - TLRs και προφίλ κυτοκινών, προωθώντας μια Th2 απόκριση (Dimmitt et al., 2010). Παρομοίως, η καναμυκίνη που χορηγήθηκε σε ποντίκια ηλικίας τριών εβδομάδων είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της κυτταροβρίθειας των πλακών Peyer και ανοσολογικές αποκρίσεις που στρέφονταν προς Th2. Ο μεταγενέστερος αποικισμός με διαφορετικά βακτηριακά είδη είχε πολύ διαφορετικές επιδράσεις: τα *Enterococcus faecalis* και *Lactobacillus acidophilus* ανέστρεψαν ή εξασθένησαν τις αλλαγές, αντίστοιχα, ενώ τα *Bacteroides*

vulgatus προκάλεσαν στην πραγματικότητα την επιδείνωσή τους. Αυτό υπογραμμίζει και πάλι τους πολύ διαφορετικούς ρόλους που παίζουν συγκεκριμένοι τύποι βακτηρίων σε σχέση με την ανοσολογική ισορροπία (Sudo et al., 2002).

Η δυσβίωση που προκαλείται από τα αντιβιοτικά είναι επίσης πιθανό να έχει πολυάριθμες ανοσολογικές και μεταβολικές συνέπειες μέσω διαδρομών που επηρεάζουν το συνολικό φλεγμονώδη τόνο του εντερικού περιβάλλοντος. Μέσω αυτής της άποψης, οι μεταβολές των μικροβίων είναι σε θέση να οδηγήσουν σε μείωση της εκκριτικής IgA, μιας μη φλεγμονώδους ανοσοσφαιρίνης που εμπλέκεται στον αποκλεισμό παθογόνων και αλλεργιογόνων (Cerutti et Rescigno, 2008). Επιπλέον, έχει φανεί ότι η μετρονιδαζόλη προκαλεί μείωση της έκφρασης του Muc2, του κύριου συστατικού της στοιβάδας βλεννίνης. Η λέπτυνση αυτού του στρώματος θα οδηγούσε σε μια πιο άμεση επαφή μεταξύ των μικροβίων και του επιθηλίου του εντέρου, με πιθανές αυξήσεις της άμεσης ανοσολογικής διέγερσης και της φλεγμονής (Wlodarska et al., 2011). Πρόσφατη εργασία σε μύες έχει δείξει ότι τα αντιβιοτικά μπορούν να προωθήσουν τη φλεγμονή αυξάνοντας τη μετατόπιση των φυσικών βακτηρίων του παχέως εντέρου κατά μήκος του εντερικού επιθηλίου. Μια τέτοια μετατόπιση απαιτεί τη συμμετοχή τόσο των ανοσοποιητικών δενδριτικών κυττάρων, όσο και των κυττάρων του παχέως εντέρου (Knoop et al., 2015).

Μεταβολές στη μικροβιακή χλωρίδα, όπως αυτές που μπορούν να συμβούν με την έκθεση σε αντιβιοτικά, είναι πιθανό να διαδραματίσουν πρωτεύοντα ρόλο στην περίπτωση μεταβολικών διαταραχών, όπως η παχυσαρκία, το μεταβολικό σύνδρομο και ο διαβήτης. Η μικροχλωρίδα έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει στη χρόνια φλεγμονή χαμηλού βαθμού που συνδέεται με περίσσεια λιπώδους εναπόθεσης και που πιθανώς προάγει την εξέλιξη από την παχυσαρκία προς το μεταβολικό σύνδρομο. Κατά αυτή την άποψη, οι μεταβολές μικροβίων που επάγονται από τη δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (High Fat Diets - HFD) συνεπάγονται αύξηση των λιποπολυσακχαριτών (LPS) στο κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων, αλλά και στο πλάσμα του αίματος γενικότερα (Cani et al., 2007). Μία ανεπάρκεια στην TLR5 έχει επίσης ως αποτέλεσμα μεταβολές μικροβίων που προκαλούν καταστάσεις μεταβολικού συνδρόμου όπως παχυσαρκία, αντίσταση στην ινσουλίνη και δυσλιπιδαιμία.

Μια άλλη κύρια οδός, μέσω της οποίας η δυσβίωση των μικροβίων επιφέρει αποτελέσματα στην ανοσία και τον μεταβολισμό, είναι πιθανό να είναι η αλλοίωση της παραγωγής λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας (SCFAs). Τα εντερικά μικρόβια καταναλώνουν μη αφομοιώσιμους υδατάνθρακες για να παράγουν SCFAs, ιδιαίτερα οξικό, προπιονικό και βουτυρικό οξύ, τα οποία χρησιμοποιούνται τοπικά από τα κύτταρα ή μεταφέρονται μέσω του επιθηλίου του

εντέρου στην κυκλοφορία του αίματος. Τα SCFAs είναι σημαντικοί παράγοντες στη διατήρηση της φυσιολογίας και της ακεραιότητας του εντέρου, προάγουν την ανοσολογική και μεταβολική ομοιόσταση και έχουν σημαντικά αντιφλεγμονώδη και αντικαρκινικά αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, τα SCFAs αλληλεπιδρούν με υποδοχείς συζευγμένους με πρωτεΐνη G (G-protein-coupled receptors - GPCRs) για τη ρύθμιση της απόθεσης λίπους (Samuel et al., 2008) και βελτιώνουν την έκκριση ινσουλίνης μέσω της διαμόρφωσης των επιπέδων της ορμόνης GLP1 (glucagon like peptide 1) (Tolhurst et al., 2012). Η ειδική σύνθεση του μικροβιώματος μεταβάλλει τους τύπους και τα επίπεδα των SCFAs που μπορεί να παραχθούν, επιδρώντας σε πολυάριθμες φυσιολογικές διεργασίες που επηρεάζονται διαφορετικά από το οξικό, προπιονικό και βουτυρικό οξύ (Macfarlane et Macfarlane, 2011). Εκτός από την παραγωγή SCFAs, το μικροβίωμα είναι υπεύθυνο για τη μετατροπή των πρωτογενών χολικών οξέων που συντίθενται στο ανθρώπινο ήπαρ σε δευτερογενή χολικά οξέα, τα οποία επίσης εμπλέκονται στην προαγωγή της ομοιόστασης της γλυκόζης μέσω της δέσμευσης GPCRs (G-protein-coupled receptors) υποδοχέων. Οι αλλαγές στο μικροβίωμα που προκαλούνται από τα αντιβιοτικά έχει φανεί ότι μεταβάλλουν τον μεταβολισμό των χολικών οξέων και την ευαισθησία στην ινσουλίνη τόσο στους ανθρώπους όσο και στους ποντικούς (Vrieze et al., 2014).

### **3.5 Το μικροβίωμα ως δεξαμενή αντίστασης στα αντιβιοτικά**

Η δυσβίωση που προκαλείται από τα αντιβιοτικά φέρει το πρόσθετο μειονέκτημα του εμπλουτισμού του μικροβιώματος με ανθεκτικούς στα αντιβιοτικά μικροοργανισμούς. Το μικροβίωμα του ανθρώπου έχει καταγραφεί ως σημαντική δεξαμενή αντίστασης στα αντιβιοτικά. Η κλίμακα του προβλήματος μπορεί να μετρηθεί από το γεγονός ότι μια ανάλυση 252 μεταγονιδιωμάτων κοπράνων από διαφορετικές χώρες ταυτοποίησε γονίδια αντοχής για 50 από τις 68 κατηγορίες και υποκλάσεις αντιβιοτικών που υποβλήθηκαν σε έλεγχο, με μέσο όρο 21 ανά δείγμα (Forslund et al., 2013). Αυτή η μελέτη, που αποτελεί την μεγαλύτερη ανάλυση πληθυσμιακού επιπέδου για εντερική αντοχή μέχρι σήμερα, έδειξε επιπλέον ότι η συγκέντρωση των γονιδίων αντοχής στα αντιβιοτικά (antibiotic resistance genes-ARGs) είναι υψηλότερη για τα αντιβιοτικά που είναι πιο παλιά στην αγορά και για εκείνα που έχουν εγκριθεί για χρήση σε ζώα, όπως η τετρακυκλίνη, βακιτρακίνη και οι κεφαλοσπορίνες. Επίσης, ευρωπαϊκά δείγματα έδειξαν αυξημένες αντιστάσεις στη βανκομυκίνη σε σύγκριση με δείγματα από τις ΗΠΑ, όπου δεν χρησιμοποιήθηκε ποτέ

ανάλογο της βανκομυκίνης που χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία των ζώων στην Ευρώπη (Field and Hershberg, 2015). Επιπλέον, η αφθονία των ARGs (antibiotic resistance genes) ήταν υψηλότερη σε δείγματα από τη Νότια Ευρώπη από ό,τι σε αυτά της Βόρειας Ευρώπης και αυτό συσχετίστηκε με μέτρα συνολικής χρήσης αντιβιοτικών σε εξωτερικούς ασθενείς στις διάφορες χώρες (Forslund et al., 2013). Αυτή η σειρά παρατηρήσεων επιβεβαιώνει την άποψη ότι η υψηλότερη έκθεση σε αντιβιοτικά αυξάνει την πιθανότητα απόκτησης αντίστασης από το μικροβίωμα του οργανισμού.

Τα παιδιά και τα βρέφη φέρουν επίσης μια ποικιλία από ARGs. Πρόσφατες αναλύσεις έχουν δείξει ότι στην πραγματικότητα, πολυάριθμα ARGs μπορούν ήδη να εντοπιστούν σε κόπρανα βρεφών ηλικίας 1 εβδομάδας, ακόμη και σε μηκόνιο, την πρώτη εναπόθεση νεογνών που σχηματίζεται από υλικό συσσωρευμένο στο γαστρεντερικό σωλήνα στο διάστημα της εμβρυϊκής ζωής (Gosalbes et al., 2015). Είναι αξιοσημείωτο ότι τα ARGs εντοπίζονται όχι μόνο σε ενήλικες και παιδιά που έχουν υποβληθεί σε αντιβιοτικές θεραπείες, αλλά και σε βρέφη και σε απομονωμένους ανθρώπινους πληθυσμούς στους οποίους δεν έχουν χορηγηθεί ποτέ αντιβιοτικά (Clemente et al., 2015). Αυτό δείχνει ότι τα ARGs μπορούν να διατηρηθούν σταθερά στο μικροβίωμα του ανθρώπινου εντέρου απουσία άμεσης δράσης αντιβιοτικών και αυτό συνάδει με το γεγονός ότι τα ARGs μπορεί να ανιχνευθούν σε ένα ευρύ φάσμα φυσικών περιβαλλόντων, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που αναμένεται να έχουν μικρή έκθεση σε αντιβιοτικά μέσω της ανθρώπινης χρήσης (Field and Hershberg, 2015). Στην περίπτωση των βρεφών, η αντοχή μπορεί να κληρονομηθεί κάθετα, καθώς τα μητρικά μικρόβια του εντέρου μπορούν να μεταδοθούν στους απογόνους, με την μεταφορά αυτή να αρχίζει από τη γέννηση. Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει κοινές ομάδες ARGs μεταξύ των δειγμάτων κοπράνων μητέρων και βρεφών και σε μερικές περιπτώσεις την παρουσία των κοινών ARGs στο μηκόνιο, το πρωτόγαλα ή το μητρικό γάλα (Gosalbes et al., 2015). Παρόλα αυτά, αυτές οι μελέτες έχουν επίσης εντοπίσει ARGs σε βρέφη που δεν υπήρχαν στις μητέρες και κατά πάσα πιθανότητα είχαν αποκτηθεί από άλλες πηγές (Pallecchi et al., 2007, Clemente et al., 2015). Αναφορικά με τους απομακρυσμένους πληθυσμούς η παρουσία ARGs στο μικροβίωμά τους υποδηλώνει δύο πιθανές προελεύσεις: (i) είτε τα ARGs τους είναι προγονικά και ήταν παρόντα πριν από την ανεξέλεγκτη εξάπλωση της αντοχής λόγω της πίεσης από την φυσική παρουσία των αντιβιοτικών (ii) είτε έχουν πρόσφατα αποκτηθεί με διασπορά ανθεκτικών σε αντιβιοτικά στελεχών από άλλες περιοχές και / ή με οριζόντια μεταφορά γονιδίων από τέτοια στελέχη στους τοπικούς βακτηριακούς πληθυσμούς τους. Οι φυλογενετικές και οι πληθυσμιακές γενετικές αναλύσεις είναι σε θέση να διακρίνουν την προέλευση των ARGs (Pallecchi et al., 2007).

Είναι σημαντικό ότι το ανθρώπινο έντερο, δεδομένης της τεράστιας πυκνότητας των βακτηριακών κυττάρων και του πλούτου των ειδών, είναι πιθανό να είναι ιδιαίτερα επιρρεπές σε οριζόντια γονιδιακή ανταλλαγή και να συμβάλλει στην εξάπλωση και αναδιάταξη των ARGs μεταξύ των βακτηριακών τάξεων. Έχει τεκμηριωθεί η μεταφορά ARGs μεταξύ απομονωθέντων στελεχών από μικροβίωμα του γένους *Bacteroides*, καθώς και μεταξύ *Bacteroides* και Gram θετικών βακτηριδίων (Shoemaker et al., 2001). Οι ίδιες αλληλουχίες ARGs έχουν ταυτοποιηθεί σε βακτήρια που συνυπάρχουν στο έντερο ενός μεμονωμένου ατόμου, συμπεριλαμβανομένων των διαφορετικών στελεχών του *E. Coli*, καθώς επίσης και των απομακρυσμένων ατόμων. Η πειραματική εργασία επιβεβαίωσε ότι ARGs μπορούν να μεταφερθούν μεταξύ βακτηριακών ειδών στα έντερα επίμυων και μυών. Επιπλέον, η μεταφορά αυτή μπορεί να διεγερθεί 100 έως 1000 φορές από χαμηλές συγκεντρώσεις αντιβιοτικού. Τα περισσότερα ανησυχητικά στοιχεία είναι ότι τα ARGs που υπάρχουν στο μικροβίωμα μπορούν επίσης να μεταφερθούν οριζόντια από και προς τα εισερχόμενα παθογόνα είδη, όπως υποδεικνύεται από το γεγονός ότι πολλά από τα γονίδια αντοχής που εντοπίζονται σε ανθρώπινες εντερικές απομονώσεις είναι ταυτόσημα σε νουκλεοτιδικό επίπεδο με γονίδια αντοχής παθογόνων προϊόντων απομόνωσης (Sommer et al., 2009). Ως εκ τούτου, το ανθρώπινο έντερο μπορεί να θεωρηθεί, όχι μόνο ως τόπος συσσώρευσης ARGs, αλλά και ως ένα περιβάλλον όπου αυτά τα γονίδια μπορούν να εξαπλωθούν στα όρια των ειδών.

## **Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ**

Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση αποσκοπεί στην κατανόηση της έννοιας του εντερικού μικροβιώματος και την σύνδεση του με την καθημερινή διατροφή. Κατά την αναζήτηση των δεδομένων διαπιστώθηκε μεγάλος όγκος βιβλιογραφικών πληροφοριών σχετικά με την σχέση κατανάλωσης αντιβιοτικών και μικροβιώματος. Έτσι λοιπόν κρίθηκε σκόπιμο να συμπεριληφθεί μέρος αυτών των πληροφοριών για την καλύτερη κατανόηση του ρόλου του εντερικού μικροβιώματος και των πολύπλοκων μηχανισμών μέσω των οποίων επηρεάζει στην υγεία. Ο περιορισμός της άσκοπης χρήσης αντιβιοτικών είναι εξάλλου ένα μείζον θέμα δημόσιας υγείας κυρίως λόγω της συσσώρευσης αντοχών από τους μικροοργανισμούς στις διάφορες αντιμικροβιακές ουσίες.

Πιο συγκεκριμένα σκοπός της ανασκόπησης είναι η τεκμηρίωση της συσχέτισης συγκεκριμένου τύπου μικροβιώματος σε υγιή και ασθενή άτομα και η διερεύνηση της επίδρασης των τροφών στη διαμόρφωση συγκεκριμένου τύπου μικροβιώματος. Ειδικότερα για το σκοπό αυτό αναλύεται η σχέση συγκεκριμένων συστατικών της τροφής με το μικροβίωμα και ο αντίκτυπος των μεταβολών στη σύνθεση του μικροβιώματος, που επιφέρει η κατανάλωση αυτών των συστατικών καθώς και στη υγεία του ατόμου. Επιμέρους στόχοι που αναλύονται για την τεκμηρίωση του σκοπού είναι:

- Η σχέση κατανάλωσης πρωτεϊνών και ο αντίκτυπος στην διαμόρφωση του μικροβιώματος.
- Η σχέση κατανάλωσης λιπών και ο αντίκτυπος στην διαμόρφωση του μικροβιώματος.
- Η σχέση κατανάλωσης υδατανθράκων (πεπτώμενοι και μη αφομοιώσιμοι) και ο αντίκτυπος στην διαμόρφωση του μικροβιώματος.
- Η σχέση κατανάλωσης προβιοτικών και ο αντίκτυπος στην διαμόρφωση του μικροβιώματος.
- Η σχέση κατανάλωσης πολυφαινολών και ο αντίκτυπος στην διαμόρφωση του μικροβιώματος.
- Η σχέση κατανάλωσης βιταμίνης D και ο αντίκτυπος στην διαμόρφωση του μικροβιώματος.



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

Πραγματοποιήθηκε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας με αναζήτηση επιστημονικών άρθρων μέσα από διάφορες μηχανές αναζήτησης. Τα άρθρα στη διαδικτυακή βάση δεδομένων Medline αναλύονται κυρίως μέσω του PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). Είναι υπηρεσία της Εθνικής Βιβλιοθήκης Ιατρικής. Μπορεί να έχει πρόσβαση σε περισσότερα από 12 εκατομμύρια αναφορές Medline και επιστημονικές εκθέσεις. Μπορεί επίσης να συνδέεται με μεγάλο αριθμό ιστότοπων που περιέχουν άρθρα και σχετικές πληροφορίες. Ο άλλος ιστότοπος που χρησιμοποιείται είναι το Openarchives.gr (<http://www.openarchives.gr/>). Οι προαναφερθέντες χώροι δίνουν στους ανθρώπους την ευκαιρία να αναζητήσουν επιστημονικά περιοδικά και αρχεία περιοδικών, διπλωματικές εργασίες, ερευνητικές δημοσιεύσεις, διδακτορικές διατριβές, φωτογραφικό υλικό κ.λπ., καλύπτοντας σημαντικά θέματα. Έγινε διερεύνηση επίσης στον ιστότοπο του Elsevier Publishing House (<https://www.elsevier.com/>). Ο ιστότοπος δημιουργήθηκε από την Elsevier Press και περιέχει επιστημονικό περιεχόμενο, όπως τεχνικές αναφορές, άρθρα και συνδέσμους ηλεκτρονικών διευθύνσεων με σχετικό περιεχόμενο. Επιπλέον, χρησιμοποιούνται δεδομένα από τη βάση δεδομένων αναζήτησης Google Scholar (<http://scholar.google.com/>), μέσω της οποίας μπορεί να αναζητηθεί υλικό ακαδημαϊκού περιεχομένου με τη μορφή άρθρων, βιβλίων, επιστημονικής έρευνας, εφημερίδων, κτλ.

Οι όροι αναζήτησης περιελάμβαναν συνδυασμούς των όρων «μικροβιακή χλωρίδα», «μικροβίωμα», «μικρόβια του εντέρου», «γαστρεντερικός σωλήνας / μικροβιολογία», «γαστρεντερικές παθήσεις / μικροβιολογία», με «δίαιτα», «τρόφιμα», «υδατάνθρακες», «πρωτεΐνες», «κρέας», «λίπος», «μεταβολικό σύνδρομο», «παχυσαρκία», «αντιβιοτικά», «δυσβίωση», «πρεβιοτικά», «προβιοτικά», «πολυφαινόλες», «βιταμίνες», «χορτοφάγος», «μεσογειακή δίαιτα», «δαιτητικές ίνες» και «συμπληρώματα διατροφής». Η αναζήτηση περιορίστηκε στα άρθρα που είναι διαθέσιμα στα Ελληνικά και Αγγλικά, σε μελέτες σε ανθρώπους και μύες, καθώς και σε εκείνες που δημοσιεύθηκαν μεταξύ 1970 και 2019. Εξαιρέθηκαν μελέτες που δεν αναφέρονται ρητά στην επίδραση μιας διαιτητικής παρέμβασης στη μικροβιακή σύνθεση του εντέρου.

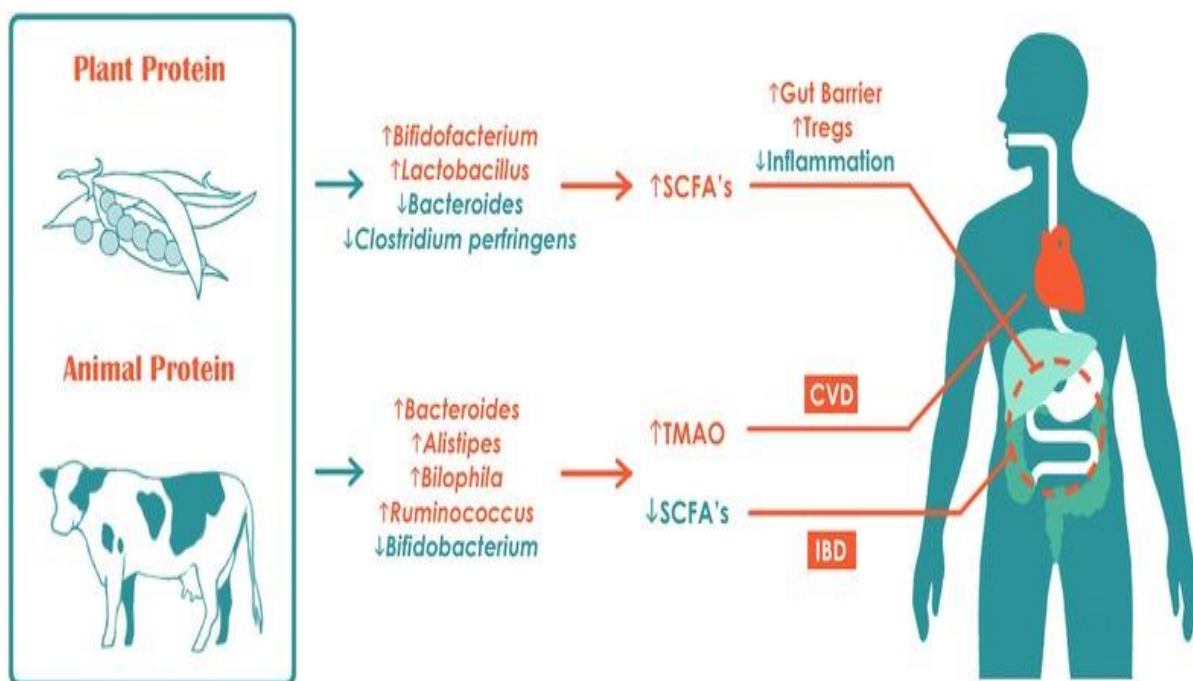
## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΑ**

## 6.1 Πρωτεΐνη

Οι επιδράσεις της διαιτητικής πρωτεΐνης στο εντερικό μικροβίωμα περιγράφηκαν για πρώτη φορά το 1977. Μια μελέτη βασισμένη σε καλλιέργειες έδειξε χαμηλότερες τιμές του *Bifidobacterium adolescentis* και αυξημένες τιμές των *Bacteroides* και *Clostridia* στα άτομα που καταναλώνουν διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα βοείου κρέατος σε σύγκριση με άτομα που ακολουθούν δίαιτα χωρίς κρέας. Με την πρόοδο των τεχνικών προσδιορισμού της αλληλουχίας 16S rRNA γονιδίου, οι μεταβλητές περιοχές του οποίου επιτρέπουν την ταυτοποίηση και τυποποίηση των βακτηρίων, αρκετές μελέτες ήταν σε θέση να διερευνήσουν διεξοδικά την επίδραση της διαιτητικής πρωτεΐνης στη μικροβιακή σύνθεση του εντέρου. Οι συμμετέχοντες έλαβαν διαφορετικές μορφές πρωτεΐνης σε αυτές τις μελέτες, όπως η ζωική πρωτεΐνη με βάση το κρέας, τα αυγά και τα τυριά. Η πλειοψηφία των μελετών βρήκε ότι η κατανάλωση πρωτεΐνης συσχετίζεται θετικά με τη συνολική μικροβιακή ποικιλομορφία. Για παράδειγμα, η κατανάλωση εκχυλίσματος πρωτεΐνης ορού γάλακτος και μπιζελλιού έχει αναφερθεί ότι αυξάνει το *Bifidobacterium* και το *Lactobacillus*, ενώ η φυτική πρωτεΐνη μειώνει επιπροσθέτως τα παθογόνα *Bacteroides fragilis* και *Clostridium perfringens*. Η βιολογική πρωτεΐνη, που παρασκευάζεται από υψηλής ποιότητας βιολογικά μπιζέλια, έχει επίσης παρατηρηθεί ότι αυξάνει τα εντερικά επίπεδα λιπαρών οξέων βραχείας αλυσού (SCFAs), τα οποία θεωρούνται αντιφλεγμονώδη και σημαντικά για τη διατήρηση του φράγματος του βλεννογόνου. Τα SCFAs επιπλέον αυξάνουν τους πληθυσμούς των ρυθμιστικών T-κυττάρων (Regulatory T-cells/Tregs) που ελέγχουν την ανοσολογική απάντηση του οργανισμού στα ξένα αντιγόνα, όσο και του ίδιου οργανισμού, και προλαμβάνουν τα αυτοάνοσα νοσήματα. Αντίθετα, παρατηρήθηκε αύξηση των αναλογιών αναερόβιων, ανθεκτικών στα χολικά οξέα, μικροβίων όπως τα *Bacteroides*, *Alistipes* και *Bilophila* με την κατανάλωση ζωικής πρωτεΐνης. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να υποστηριχθεί περαιτέρω από μια ανεξάρτητη μελέτη στην οποία οι ερευνητές συνέκριναν το εντερικό μικροβίωμα παιδιών από την Ιταλία, με αυτήν των παιδιών σε ένα αγροτικό αφρικανικό χωριό. Το μικροβίωμα των παιδιών από την Ιταλία, που καταλάωναν περισσότερη ζωική πρωτεΐνη, ήταν πλούσιο σε *Bacteroides* και *Alistipes*. Συγκεκριμένα, μία μελέτη που συνέκρινε θερμιδικά ισοδύναμη δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε ζωική πρωτεΐνη με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες/φυτικές ίνες, ανέφερε ότι το σωματικό βάρος των ατόμων στην ομάδα της φυτικής διατροφής παρέμεινε σταθερό, αλλά μειώθηκε σημαντικά, κατά την τρίτη ημέρα, στα άτομα της δίαιτας με βάση τις πρωτεΐνες των ζώων ( $p < 0,05$ ). Αν και η υψηλή πρόσληψη πρωτεϊνών/χαμηλών υδατανθράκων μπορεί να προάγει μεγαλύτερη σχετική απώλεια βάρους,

αυτό το σχέδιο διατροφής μπορεί να βλάψει την υγεία, προδιαθέτοντας τον οργανισμό για καρδιαγγειακά νοσήματα και φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Μία άλλη μελέτη διαπίστωσε ότι τα άτομα με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες/χαμηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες είχαν μειωμένους πληθυσμούς *Roseburia* και *Eubacterium rectale* στο εντερικό μικροβίωμα και παρουσίασαν μειωμένη αναλογία βουτυρικού οξέος στα κόπρανά τους. Στη μελέτη τους οι De Filippis et al. βρήκαν ομοίως λιγότερα SCFAs στα περιττώματα ατόμων που κατανάλωσαν πλούσια σε πρωτεΐνες δίαιτα (De Filippis F. et al., 2016). Οι άνθρωποι που καταναλώνουν πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης έχουν επίσης μεγαλύτερο ποσοστό οξειδίου της τριμεθυλαμίνης (Trimethylamine N-oxide/TMAO) στο αίμα και στα ούρα τους, ως μεταβολικό προϊόν των μικροβίων που πέπτουν τη χολίνη, τη βεταΐνη και την καρνιτίνη που περιέχονται ιδίως στο κόκκινο κρέας. Το TMAO χαρακτηρίζεται ως αθηρογόνο, προθρομβωτικό και προφλεγμονώδες (Forouhi N.G. et al., 2018).

**Εικόνα 10. Ο αντίκτυπος της διαιτητικής πρωτεΐνης στο εντερικό μικροβίωμα και τα αποτελέσματά της στην υγεία**



Πηγή : /The Human Gut Microbiota,  
[https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC112042/human\\_gut\\_microbiota\\_online.pdf/](https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC112042/human_gut_microbiota_online.pdf/)

Οι μελέτες με μύες αποκάλυψαν ότι η υψηλή πρόσληψη πρωτεϊνών αυξάνει τα επίπεδα του ινσουλινομορφου αυξητικού παράγοντα 1 (Insulin like growth factor/IGF-1), τα οποία με τη σειρά τους συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, διαβήτη και συνολικής θνησιμότητας. Σε μία μελέτη οι φυτικές πρωτεΐνες συνδέονται με χαμηλότερη θνησιμότητα

από τις ζωικές πρωτεΐνες (Levine et al., 2014). Κατά συνέπεια, η μακροχρόνια πρακτική τέτοιων διατροφικών συνηθειών μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο για ασθένειες του παχέος εντέρου και άλλων. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι δίαιτες με βάση τα ζωικά προϊόντα, εκτός από πλούσιες σε πρωτεΐνη, είναι συνήθως υψηλής περιεκτικότητας και σε λιπαρά (η πρωτεΐνη δεν καταναλώνεται μεμονωμένα). Το διαιτητικό λίπος μπορεί επίσης να επηρεάσει τη μικροβιακή σύνθεση συνεπώς, θα απαιτηθούν περαιτέρω μελέτες για να διερευνηθεί σε ποια περιεκτικότητα κάθε μακρομόριο επηρεάζει τις βακτηριδιακές κοινότητες και πώς ενεργούν από κοινού (Vaughn A.C. et al., 2017). Έχει διεξαχθεί συζήτηση αναφορικά με την ασφάλεια που έχει η υψηλή διατροφική πρόσληψη πρωτεϊνών. Τα κύρια ζητήματα της συζήτησης αποτελούν ο ρυθμός απορρόφησης αμινοξέων από το έντερο και η ικανότητα του ήπατος για απομάκρυνση των πρωτεϊνών και παραγωγής ουρίας για την απέκκριση της περίσσειας αζώτου (Michael R.Charlton, 2005).

## 6.2 Λίπη

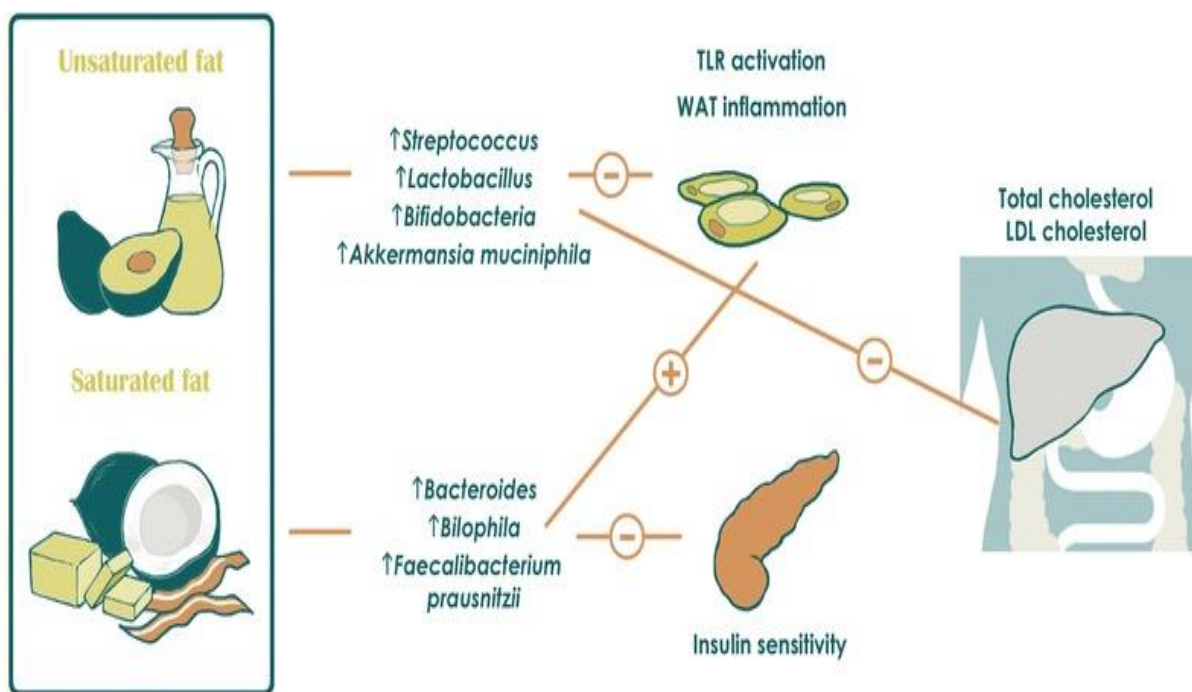
Το διαιτητικό λίπος είναι ακόμα και στις ημέρες μας μια παρεξηγημένη θρεπτική ουσία. Αρκετοί πιστεύουν ότι τα λίπη είναι <<κακά>>. Η συσχέτιση αυτή οφείλεται κυρίως στα προβλήματα που προκαλούνται μέσω της υπερβολικής πρόσληψης διατροφικού λίπους, στα οποία συμπεριλαμβάνονται η παχυσαρκία, οι καρδιαγγειακές παθήσεις και ορισμένες μορφές καρκίνου (Boyd N. et al., 2003). Παρόλα αυτά το λίπος επιτελεί σημαντικό ρόλο για τα ενεργειακά αποθέματα και την μόνωση στο ανθρώπινο σώμα. Το λίπος μεταφέρει άλλα πολύτιμα θρεπτικά συστατικά, λόγω χάρη τις λιποδιαλυτές βιταμίνες (A, D, E, και K) και είναι θερμορυθμιστικό όργανο. Σημαντικό επίσης συστατικό των λιπιδίων, για τον οργανισμό και τις λειτουργίες του, είναι τα τρία βασικά λιπαρά οξέα (λινελαϊκό /ω-6, αραχιδονικό, α-λινολενικό οξύ/ω-3), απαραίτητα για την καρδιακή υγεία (Lee J. et al., 2009).

Η κατανάλωση διαιτολογίων υψηλής περιεκτικότητας σε κορεσμένα και trans λιπαρά πιστεύεται ότι αυξάνει τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου μέσω της αύξησης της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL) και της ολικής χοληστερόλης στο αίμα (Stamler et al., 2000). Στον αντίποδα, τα λίπη που προάγουν την υγεία, όπως τα mono- και πολυακόρεστα λίπη, είναι ζωτικής σημασίας για την προστασία από τον κίνδυνο χρόνιων ασθενειών (Dietary fats, 2002). Η τυπική διατροφή δυτικού τύπου είναι πλούσια σε κορεσμένα και trans, ενώ είναι φτωχή σε monoακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά και επομένως προδιαθέτει τους τακτικούς καταναλωτές της σε πολλά προβλήματα υγείας (Kris-Etherton PM, 2002). Αρκετές μελέτες σε ανθρώπους έχουν δείξει πως μια δίαιτα που περιέχει πολλά λιπαρά αυξάνει την ολική αναερόβια μικροχλωρίδα και τις μετρήσεις του Bacteroides (Drasar et al., 2007). Οι

έρευνες δείχνουν ότι η κατανάλωση διαίτας χαμηλών λιπαρών οδήγησε σε αφθονία του *Bifidobacterium* στα κόπρανα με ταυτόχρονη μείωση της γλυκόζης νηστείας και της ολικής χοληστερόλης, σε σύγκριση με την αρχική τιμή (Fava et al., 2013). Από την άλλη πλευρά, μια διατροφή πλούσια σε κορεσμένα λιπαρά αύξησε τη σχετική αναλογία του *Faecalibacterium prausnitzii* (Wu et al., 2011). Τέλος, τα άτομα με υψηλή πρόσληψη μονοακόρεστου λίπους δεν παρουσίασαν μεταβολές στη σχετική αφθονία οποιονδήποτε βακτηριακών γενών, αλλά είχαν συνολικά μειωμένο ολικό βακτηριακό φορτίο και μειωμένη ολική και LDL χοληστερόλη στο πλάσμα (Fava et al., 2013). Σύμφωνα με τα ευρήματα αυτά, η κατανάλωση σολωμού - ο οποίος είναι πλούσιος σε μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα - δεν παρατηρήθηκε να μεταβάλλει τη σύνθεση των μικροοργανισμών στο μικροβίωμα 123 ατόμων (Urwin et al., 2014). Μελέτες σε αρουραίους έχουν δείξει ότι η κατανάλωση μιας διαίτας με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά έχει ως αποτέλεσμα σημαντικά λιγότερα *Lactobacillus intestinalis* και δυσανάλογα περισσότερα είδη που παράγουν προπιονικό και οξικό οξύ, συμπεριλαμβανομένων των *Clostridiales*, *Bacteroides* και *Enterobacteriales*. Επιπλέον, η αφθονία του *Lactobacillus intestinalis* συσχετίζεται αρνητικά με τη μάζα του λίπους και το σωματικό βάρος αρουραίων (Lecomte et al., 2015). Οι μικροβιακές αλλαγές στο μικροβίωμα έχουν επίσης αποδειχθεί ότι ελέγχουν την επαγόμενη φλεγμονή, από μεταβολική ενδοτοξιναιμία, σε μύες οι οποίοι καταναλώνουν δίαιτα που περιέχει υψηλά ποσοστά λιπαρών (Cani et al., 2008). Οι μελέτες μυών έχουν επίσης συγκρίνει τις διαφορετικές επιδράσεις διαφόρων λιπιδίων στην εντερική μικροχλωρίδα. Μια σύγκριση της διαίτας με λιπίδια που προέρχονται από λαρδί και ιχθυέλαιο αποκάλυψαν ότι τα *Bacteroides* και *Bilophila* αυξήθηκαν σε μύες που είχαν τραφεί με λαρδί, ενώ αυξήθηκαν τα *Actinobacteria* (*Bifidobacterium* και *Adlercreutzia*), τα βακτηρίδια γαλακτικού οξέος (*Lactobacillus* και *Streptococcus*) και τα *Verrucomicrobia* (*Akkermansia muciniphila*) σε μύες που τρέφονταν με ιχθυέλαιο. Επιπλέον, οι μύες που έλαβαν λαρδί είχαν αυξημένη συστηματική ενεργοποίηση των Toll-like receptors (TLRs-κλάση πρωτεϊνών που παίζει ρόλο στην ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού), φλεγμονή του λευκού λιπώδους ιστού και μειωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη σε σύγκριση με τους μύες που κατανάλωναν ιχθυέλαιο. Οι συγγραφείς κατέδειξαν ότι αυτά τα ευρήματα οφείλονται τουλάχιστον εν μέρει στις μικροβιακές διαφορές της χλωρίδας των εντέρων μεταξύ των δύο ομάδων (Daniel H. et al., 2014). Η μεταμόσχευση μικροβίων από τη μία ομάδα στην άλλη μετά τη χορήγηση αντιβιοτικών όχι μόνο εμπλούτισε το έντερο του δέκτη του μοσχεύματος με κυρίαρχα γένη από τα είδη-δότες, αλλά επίσης μετέφερε τους φλεγμονώδεις και μεταβολικούς φαινότυπους του δότη. Αυτά τα αποτελέσματα τεκμηριώνουν ότι η μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου

μπορεί να προάγει τη μεταβολική φλεγμονή μέσω της σηματοδότησης TLR, μετά από πρόκληση με μια διατροφή πλούσια σε κορεσμένα λιπίδια (Caesar et al., 2015).

**Εικόνα 11.** Αντίκτυπος των διαιτητικών λιπών στο μεταβολισμό του ξενιστή. Ο ρόλος του υποδοχέα τύπου (TLR), του λευκού λιπώδους ιστού (WAT), της λιποπρωτεΐνης χαμηλής ποκνότητας (LDL)



**Πηγή :** /The Human Gut Microbiota, [https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC112042/human\\_gut\\_microbiota\\_online.pdf/](https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC112042/human_gut_microbiota_online.pdf/)

### 6.3 Πεπτώμενοι υδατάνθρακες

Η υψηλή πρόσληψη λίπους, ανεξαρτήτως της ποιότητας του λίπους, θα αυξήσει τον κίνδυνο για υπερβολικό βάρος και θα επηρεάσει αρνητικά τις λιποπρωτεΐνες, ειδικά στα άτομα που εμφανίζουν μειωμένη οξείδωση του λίπους (Christine L Pelkman et al., 2004). Μια διατροφή για είναι ισορροπημένη πρέπει να περιλαμβάνει πολλές τροφές πλούσιες σε σύνθετους υδατάνθρακες. Τα τρόφιμα υψηλής περιεκτικότητας σε σύνθετους υδατάνθρακες αποτελούν άριστη πηγή φυτικών ινών, πολλών βιταμινών και μετάλλων. Τα σύγχρονα μοντέλα υγιεινής διατροφικής συνήθειας βασίζονται στη μέτρια πρόσληψη λίπους, κυρίως μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, και στην αυξημένη πρόσληψη τροφών πλούσιων σε άμυλο, στοιχεία που αποτελούν κύρια χαρακτηριστικά της μεσογειακής διατροφής. Παρά το γεγονός ότι η διαίτα αυτή επιδρά ευεργετικά στο μεταβολισμό των λιπιδίων, τα οφέλη από μια τέτοια διαίτα με υψηλή περιεκτικότητα υδατανθράκων μπορεί να μετριαστούν σε διαβητικούς ή σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο, ή άλλα υποκείμενα νοσήματα, που μπορούν να αποτελέσουν



παράγοντα κινδύνου για στεφανιαία νόσο (Liu Simin et al., 2001). Η πρόσληψη υδατανθράκων με τη μορφή επεξεργασμένων δημητριακών, ωστόσο, θα πρέπει να αποφεύγεται. Επεξεργασμένα δημητριακά, όπως λευκό ρύζι ή άσπρο αλεύρι, δεν αποτελούν πλούσια πηγή θρεπτικών συστατικών, διότι κατά τη διαδικασία επεξεργασίας απομακρύνονται οι φυτικές ίνες, οι βιταμίνες, τα μέταλλα και άλλα φυτικά συστατικά. (Thielecke F et al., 2020). Η διατροφή που είναι πλούσια σε επεξεργασμένα δημητριακά συσχετίζεται με αύξηση των τριγλυκεριδίων και μείωση της «καλής» HDL-χοληστερόλης στο αίμα (Nils-Georg Asp et al., 1993). Η αντίσταση στην ινσουλίνη μερικές φορές επιδεινώνεται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, επιδεινώνοντας περαιτέρω αυτές τις παρενέργειες. Αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη, καθώς και αύξηση του επιπολασμού του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, παρατηρείται τόσο στις ΗΠΑ όσο και παγκοσμίως (Ford ES, 2004).

Οι υδατάνθρακες είναι πιθανώς το καλύτερο μελετημένο διαιτητικό συστατικό για την ικανότητά τους να τροποποιούν το μικροβίωμα του εντέρου. Οι υδατάνθρακες υπάρχουν σε δύο κατηγορίες: πεπτώμενοι και μη πεπτώμενοι. Οι πεπτώμενοι υδατάνθρακες αποικοδομούνται ενζυματικά στο λεπτό έντερο και περιλαμβάνουν τα άμυλα και σάκχαρα, όπως γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη και λακτόζη. Κατά την αποικοδόμησή τους, αυτές οι ενώσεις απελευθερώνουν γλυκόζη στην κυκλοφορία του αίματος και διεγείρουν την έκκριση ινσουλίνης. Άνθρωποι που τράφηκαν με υψηλά επίπεδα γλυκόζης, φρουκτόζης και σακχαρόζης με τη μορφή φρούτων είχαν αυξημένη σχετική αφθονία των Bifidobacteria, με μειωμένα Bacteroides (Eid N et al., 2014). Σε μια ξεχωριστή μελέτη, η προσθήκη λακτόζης στη δίαιτα οδήγησε σε αυτές τις ίδιες βακτηριακές μετατοπίσεις, ενώ ταυτόχρονα μείωσε το είδος Clostridia (Jeffery, O'Toole, 2013). Συγκεκριμένα, πολλά είδη Clostridium cluster XIVa έχουν συσχετιστεί με το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (Francavilla et al., 2012). Επιπρόσθετα παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη της λακτόζης αυξάνει την συγκέντρωση των επωφελών SCFAs στα κόπρανα (Francavilla et al., 2012). Αυτά τα ευρήματα είναι αρκετά απροσδόκητα δεδομένου ότι η λακτόζη θεωρείται συνήθως ως πιθανό ερεθιστικό του γαστρεντερικού συστήματος (π.χ. δυσανεξία στη λακτόζη). Περαιτέρω μελέτες που επικυρώνουν αυτές τις παρατηρήσεις μπορούν να βοηθήσουν στη διευκρίνιση των επιδράσεων της λακτόζης (Atarashi K. et al., 2013).

Τα τεχνητά γλυκαντικά σακχαρίνη, σουκραλόζη και ασπαρτάμη αντιπροσωπεύουν μια άλλη περίπτωση διατροφικής διαφωνίας. Αρχικά κυκλοφορούσαν στην αγορά ως μία υγιεινή επιλογή, για τρόφιμα χωρίς / ή με λιγότερες θερμίδες, τα οποία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν με σκοπό την αντικατάσταση της ζάχαρης. Πρόσφατα στοιχεία από τους

Bonder et al. υποδηλώνουν ότι η κατανάλωση όλων των τύπων τεχνητών γλυκαντικών είναι στην πραγματικότητα πιο πιθανό να προκαλέσει δυσανεξία στη γλυκόζη σε σχέση με την κατανάλωση καθαρής γλυκόζης και σακχαρόζης (Bonder M.J., et al., 2016). Είναι ενδιαφέρον ότι τα τεχνητά γλυκαντικά πιστεύεται πως μεσολαβούν σε αυτό το αποτέλεσμα μέσω αλλαγών στο μικροβίωμα του εντέρου. Για παράδειγμα, οι μύες που έλαβαν σακχαρίνη παρατηρήθηκαν ότι είχαν εντερική δυσβίωση με μειωμένη σχετική αναλογία των *Bacteroides* και μειωμένου *Lactobacillus reuteri* (Suez et al., 2014). Αυτές οι μικροβιακές μετατοπίσεις αντιτίθενται άμεσα σε εκείνες που προκαλούνται από την πρόσληψη φυσικών σακχάρων (γλυκόζη, φρουκτόζη και σακχαρόζη) - όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Τα στοιχεία δείχνουν ότι, αντίθετα με την κοινή πεποίθηση, τα τεχνητά γλυκαντικά μπορεί στην πραγματικότητα να μην είναι υγιεινά για κατανάλωση αντί για τα φυσικά σάκχαρα (Bonder M.J., et al., 2016).

#### **6.4 Μη αφομοιώσιμοι υδατάνθρακες - Πρεβιοτικά**

Σε αντίθεση με τους αφομοιώσιμους υδατάνθρακες, οι μη πεπτώμενοι υδατάνθρακες, όπως οι διαιτητικές ίνες και το ανθεκτικό άμυλο δεν αποικοδομούνται ενζυματικά στο λεπτό έντερο. Αντίθετα, ταξιδεύουν στο παχύ έντερο, όπου υφίστανται ζύμωση από μόνιμους μικροοργανισμούς. Συνεπώς, οι διαιτητικές ίνες είναι μια καλή πηγή προσβάσιμων από το μικροβίωμα υδατανθράκων (microbiota accessible carbohydrates/MACs), οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τα μικρόβια για να παρέχουν στον ξενιστή ενέργεια και ως πηγή άνθρακα. Κατά αυτή τη διαδικασία, είναι σε θέση να τροποποιήσουν το εντερικό περιβάλλον (Sonnenburg ED, Sonnenburg JL, 2014). Αυτή η ιδιότητα των ινών δικαιολογεί τον πρόσθετο χαρακτηρισμό τους ως πρεβιοτικά, τα οποία εξ ορισμού είναι μη πεπτώμενα διαιτητικά συστατικά που είναι ευεργετικά για την υγεία του ξενιστή μέσω της επιλεκτικής διέγερσης της ανάπτυξης ή/και της δραστηριότητας ορισμένων μικροοργανισμών (de Vrese M, Schrezenmeir J., 2008). Πηγές πρεβιοτικών περιλαμβάνουν τους σπόρους σόγιας, την ινουλίνη, το μη επεξεργασμένο σιτάρι και κριθάρι, την ακατέργαστη βρώμη, το ψύλλιο, το κόμμι ακακίας και μη εύπεπτους ολιγοσακχαρίτες, όπως φρουκτάνες, πολυδεξτρόζη, φρουκτοολιγοσακχαρίτες (FOS), γαλακτοολιγοσακχαρίτες (GOS), ξυλοολιγοσακχαρίτες (XOS) και αραβινοολιγοσακχαρίτες (AOS). Μια δίαιτα φτωχή σε αυτές τις ουσίες έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τη συνολική βακτηριακή αφθονία στο μικροβίωμα του εντέρου (Halmos et al., 2015). Σε αντίθεση με τους αφομοιώσιμους υδατάνθρακες, οι μη πεπτώμενοι υδατάνθρακες, όπως οι διαιτητικές ίνες και το ανθεκτικό άμυλο σε 49 παχύσαρκα άτομα οδήγησε σε αύξηση του πλούτου των γονιδίων των μικροβίων (Cotillard et al., 2013). Όσον

αφορά τις επιδράσεις τους σε συγκεκριμένα βακτηριδιακά γένη, πολλές μελέτες υποδεικνύουν ότι μια δίαιτα πλούσια σε μη αφομοιώσιμους υδατάνθρακες, που είναι πλούσια σε δημητριακά ολικής αλέσεως και πίτυρα σίτου συνδέεται με την αύξηση των εντερικών *Bifidobacteria* και *Lactobacilli* (Carvalho-Wells et al., 2010). Άλλοι μη αφομοιώσιμοι υδατάνθρακες, όπως το ανθεκτικό άμυλο και το κριθάρι ολικής αλέσεως, φαίνεται να αυξάνουν επίσης την αφθονία των *Ruminococcus*, *E. Rectale* και *Roseburia* (Leitch et al., 2007). Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ότι πρεβιοτικά με βάση το FOS, πολυδεξτρόζη και AOS μειώνουν τα επίπεδα των ειδών *Clostridium* και *Enterococcus* (François et al., 2014). Μια συγχρονική μελέτη 344 ασθενών με προχωρημένα αδενώματα του παχέος εντέρου αποκάλυψε ότι τα *Roseburia* και *Eubacterium* ήταν σημαντικά λιγότερα, ενώ οι *Enterococcus* και *Streptococcus* ήταν πιο διαδεδομένοι σε αυτά τα άτομα συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες (Chen HM et al., 2013). Μειωμένη πρόσληψη διαιτητικών ινών και σταθερά χαμηλότερη παραγωγή SCFAs παρατηρήθηκε επίσης στην ομάδα του αδενώματος (Mitsou E.K., et al., 2017).

Εκτός από τις επιδράσεις τους στη σύνθεση του μικροβιώματος, και πιθανώς μερικώς μεσολαβούμενες από αυτές τις επιδράσεις, τα πρεβιοτικά προάγουν επίσης αξιοσημείωτες μεταβολές στους μεταβολικούς και ανοσολογικούς δείκτες. Για παράδειγμα, σε αρκετές ομάδες παρατηρήθηκαν μειώσεις στην προ-φλεγμονώδη κυτταροκίνη IL-6, στην αντίσταση στην ινσουλίνη και στην κορυφή της καμπύλης γλυκόζης που σχετίζεται με την πρόσληψη μη πεπτώμενων υδατανθράκων που υπάρχουν σε ολόκληρους κόκκους δημητριακών (Martínez I et al., 2013). Σε μια ομάδα παρατηρήθηκε επιπλέον μείωση του συνολικού σωματικού βάρους και των συγκεντρώσεων των τριγλυκεριδίων του ορού, της ολικής χοληστερόλης, της LDL-χοληστερόλης και της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) (Kim MS et al., 2013). Επίσης, σημειώθηκαν αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα της αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-10, με κατανάλωση βουτυλιωμένου αμύλου αραβοσίτου υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη (West NP et al., 2013). Η ευεργετική επίδραση των πρεβιοτικών στην ανοσολογική και μεταβολική λειτουργία του εντέρου θεωρείται ότι συνεπάγεται με αυξημένη παραγωγή SCFAs και ενίσχυση του λεμφοειδούς ιστού που σχετίζεται με το έντερο (Gut-associated lymphoid tissue / GALT) λόγω της ζύμωσης των ινών (Gutiérrez-Díaz I., et al., 2016).

## 6.5 Προβιοτικά

Τα προβιοτικά αποτελούν "ζώντα βακτήρια τα οποία έχουν ευεργετική επίδραση στον ξενιστή όταν χορηγηθούν σε επαρκείς ποσότητες" (Shen J et al., 2014). Αυτός ο ορισμός αναφέρεται σε μικροβιακά στελέχη που έχουν αποδειχθεί επιστημονικά ότι έχουν ευεργετικά αποτελέσματα στο ανθρώπινο σώμα και την υγεία. Ουσιαστικά αποτελούν μικροβιακά

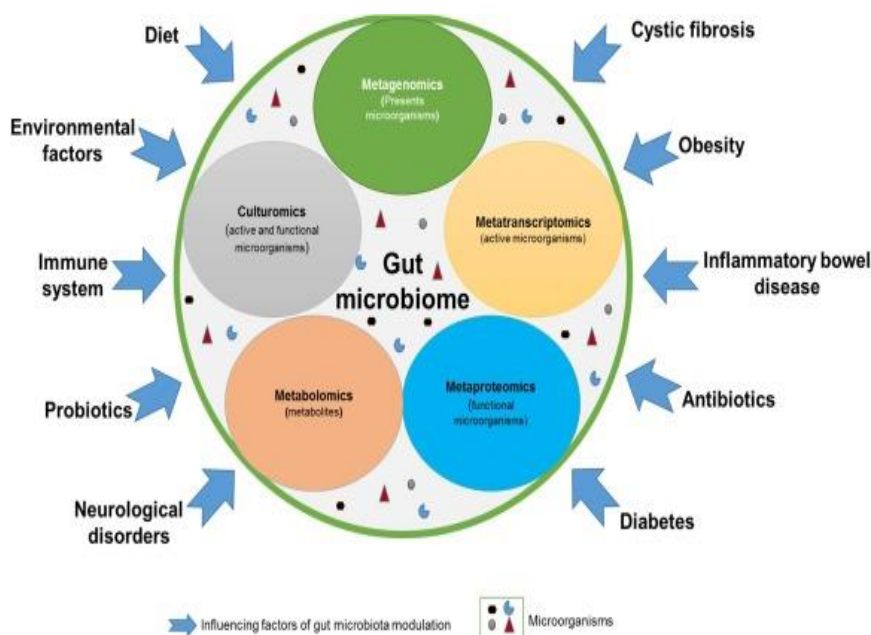
στελέχη με ευεργετική επίδραση στον οργανισμό, εκ των οποίων τα περισσότερα που χρησιμοποιούνται σήμερα έχουν απομονωθεί από την μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου υγιών ατόμων και ανήκουν κυρίως στα γένη *Lactobacillus* και *Bifidobacterium*. (Gueimonde et Collado, 2012).

Τα ζυμωμένα τρόφιμα που περιέχουν βακτηρίδια γαλακτικού οξέος, όπως τα γαλακτοκομικά προϊόντα και το γιαούρτι που έχουν υποστεί ζύμωση, αντιπροσωπεύουν μια πηγή μικροοργανισμών που μπορούν να καταναλωθούν και να ρυθμίσουν ευεργετικά την υγεία του εντέρου, ακόμη και να θεραπεύσουν ή να προλάβουν τη φλεγμονώδη νόσο του (Shen J et al., 2014). Θεωρείται ότι αυτό επιτυγχάνεται μέσω της επίδρασής τους στο υπάρχον μικροβιακό φορτίο του εντέρου, και της πιθανής επαγωγής αντιφλεγμονωδών κυτοκινών, όπως η IL-10 (Foligné B et al., 2016). Με βάση αυτές τις ιδιότητες, τρόφιμα εμπλουτισμένα με αυτούς τους τροποποιητικούς μικροοργανισμούς αναφέρονται ως προβιοτικά. Πολλές ομάδες ατόμων έχουν αναφερθεί ότι φέρουν αυξημένο ολικό βακτηριακό φορτίο μετά από τακτική κατανάλωση ζυμωμένου γάλακτος ή γιαουρτιού (Matsumoto K et al., 2010). Σημαντικές αυξήσεις στα ευεργετικά *Bifidobacteria* και *Lactobacilli* του εντέρου παρατηρήθηκαν επίσης σταθερά με διάφορους τύπους προβιοτικών. Μια τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη με εικονικό φάρμακο σε 60 υπέρβαρους ενήλικες που κατανάλωναν προβιοτικά που περιείχαν τρία στελέχη *Bifidobacteria*, τέσσερα στελέχη *Lactobacilli* και ένα στέλεχος *Streptococcus* ανέφεραν σημαντικές αυξήσεις στη συγκέντρωση των ολικών αερόβιων και αναερόβιων, *Lactobacillus*, *Bifidobacteria* και *Streptococcus* σε σύγκριση με την ομάδα που λάμβανε το εικονικό φάρμακο (placebo). Αυτά τα άτομα είχαν επίσης λιγότερα ολικά κολοβακτηρίδια και *Escherichia coli*, καθώς και μειωμένα τριγλυκερίδια, ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη, VLDL χοληστερόλη και C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής ευαισθησίας (hsCRP). Η «καλή» HDL-χοληστερόλη και η ευαισθησία στην ινσουλίνη βελτιώθηκαν επίσης μετά την προσθήκη προβιοτικών συμπληρωμάτων. Είναι ενδιαφέρον ότι τα άτομα με χαμηλή τιμή HDL, αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη και αυξημένη hsCRP κατά την έναρξη της μελέτης παρατηρήθηκε ότι είχαν σημαντικά λιγότερα ολικά *Lactobacilli* και *Bifidobacteria* με περισσότερα *Escherichia coli* και *Bacteroides* (Rajkumar H et al., 2014). Προβιοτικά που περιέχουν γιαούρτι έχει επίσης αποδειχθεί ότι οδηγούν σε σημαντική μείωση των παθογόνων *E. Coli* και *Helicobacter pylori* (McRorie J.W., 2015).

Άλλα αναφερθέντα οφέλη για την υγεία από την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων που έχουν υποστεί ζύμωση περιλαμβάνουν την ανακούφιση από τα συμπτώματα γαστρεντερικής δυσανεξίας, την επιτάχυνση του χρόνου διέλευσης των τροφών από το έντερο, την αύξηση της ολικής εκκριτικής ανοσοσφαιρίνης A (IgA) στον ορό για την

ενίσχυση της χυμικής ανοσοαπόκρισης, την αναστολή της προσκόλλησης των παθογόνων στον εντερικό βλεννογόνο και τη μειωμένη κοιλιακή διάταση και του ασκίτη σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο (Liu JE et al., 2010). Μία μελέτη που ανέλυσε τα κόπρανα ασθενών με σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS) εντόπισε μειωμένο πληθυσμό *Lactobacillus* (Malinen E et al., 2005). Επιπλέον, πρέπει να αναφερθεί ότι τα *Lactobacilli* και *Bifidobacteria* έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την πρόληψη της διάρροιας του ταξιδιώτη (De Wit N., et al., 2012).

**Εικόνα 12. Κατανοώντας το ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα: τα διαφορετικά πεδία -omics- που εμπλέκονται και οι παράγοντες επιρροής του μικροβιώματος**



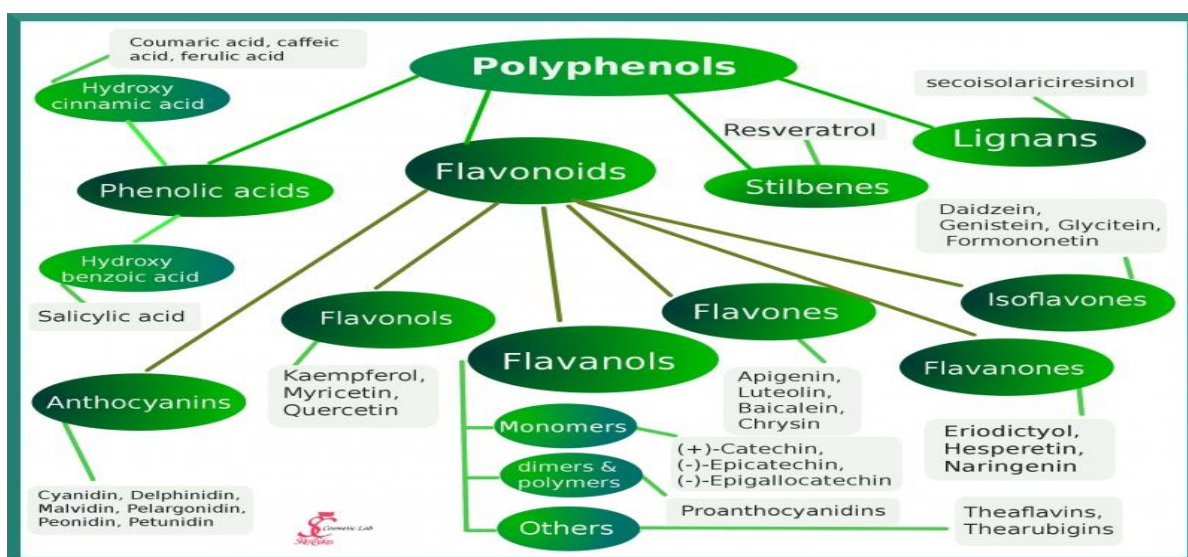
**Πηγή: /ELSEVIER:Metaproteomics of the human gut microbiota: Challenges and contributions to other OMICS, Ngom, Issa Isaac, Decloquement Philippe Armstrong Nicholas, Didier Raoult, Chabrière Eric, June, 2019./**

Ως συμβιωτικά ορίζεται ένα μείγμα προβιοτικών και πρεβιοτικών τα οποία βελτιώνουν την επιβίωση και εμφύτευση των ζωντανών διαιτητικών συμπληρωμάτων στο γαστρεντερικό σωλήνα, είτε διεγείροντας την ανάπτυξη ή ενεργοποιώντας μεταβολικά τα βακτήρια που προωθούν την υγεία (Gibson and Robertfroid, 1995). Τα τελικά αποτελέσματα των παραπάνω, θα ήταν η βελτίωση της επιβίωσης του προβιοτικού καθώς έχει ένα εύκολο υπόστρωμα για την ζύμωση του, οι αυξανόμενοι αριθμοί βακτηρίων που φθάνουν και επικρατούν στο παχύ έντερο, η προαγωγή της μεταβολικής δραστηριότητας των εντερικών βακτηρίων και ειδικότερα η μείωση της γλυκολυτικής δραστηριότητας των βακτηριακών ενζύμων και η αύξηση των παραγομένων συγκεντρώσεων SCFA, καθώς και τα ατομικά πλεονεκτήματα που τα προβιοτικά / πρεβιοτικά μπορεί να προσφέρουν (Pandey et al., 2015).

## 6.6 Πολυφαινόλες

Διατροφικές πολυφαινόλες, οι οποίες περιλαμβάνουν κατεχίνες, φλαβονόλες, φλαβόνες, ανθοκυανίνες, προανθοκυανιδίνες και φαινολικά οξέα, μελετώνται ενεργά για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Τα κοινά τρόφιμα με πλούσια περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες περιλαμβάνουν φρούτα, σπόρους, λαχανικά, πράσινο τσάι, προϊόντα κακάο και κρασί. Τα συνηθισμένα εμπλουτισμένα βακτηριακά γένη στις μελέτες που αναλύουν αυτές τις πηγές τροφίμων περιλαμβάνουν τα *Bifidobacterium* και *Lactobacillus*. Η σχετική αφθονία του *Bacteroides* αναφέρθηκε ότι αυξάνεται σε άτομα που καταναλώνουν πολυφαινόλες κόκκινου κρασιού (Cuervo et al., 2015). Το *Bifidobacterium* είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο προβιοτικό στέλεχος με καταγεγραμμένα οφέλη για την υγεία, όπως η ανοσοποιητική διαμόρφωση, η πρόληψη του καρκίνου και η διαχείριση της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου (Pandey et al., 2015). Όσον αφορά τα περαιτέρω οφέλη για την υγεία, η κατανάλωση πολυφαινολών προερχόμενων από κακάο έχει συσχετιστεί με σημαντικές αυξήσεις της HDL στο πλάσμα και σημαντικές μειώσεις στις συγκεντρώσεις τριακυλογλυκερόλης και C-αντιδρώσας πρωτεΐνης στο πλάσμα (Martin et al., 2012). Επιπρόσθετα, μια μελέτη που εξέτασε την αντιβακτηριακή δράση πολυφαινολών από φρούτα βρήκε υψηλή ευαισθησία σε αυτές τις ενώσεις για τα εντεροπαθογόνα *Staphylococcus aureus* και *Salmonella typhimurium*. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν μειώσεις των παθογόνων ειδών *Clostridium* (*C.perfringens* και *C.histolyticum*) μετά την κατανάλωση πολυφαινολών φρούτων, σπόρων, οίνων και τσαγιού (Gutiérrez-Díaz I., et al., 2016).

Εικόνα 13. Οι κυριότερες κατηγορίες διατροφικών πολυφαινολών



Πηγή: <https://skinchakra.eu/blog/archives/416-Plant-Extracts-101Part-V-Phytochemicals-in-cosmetics-Polyphenols.html/>

## 6.7 Βιταμίνη D

Όταν η ηλιακή υπεριώδης ακτινοβολία (UV) έρχεται σε επαφή με το δέρμα του ανθρώπου, το σώμα παράγει προβιταμίνη D3 (χοληκαλσιφερόλη). Δέκα (10) λεπτά έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία ημερησίως είναι αρκετά για να συνθέσει το σώμα την απαιτούμενη ποσότητα βιταμίνης D3. Η προβιταμίνη D3 μετατρέπεται σε 25-υδροξυ-βιταμίνη D (25-OH-βιταμίνη D, καλσιφεδιόλη) στο ήπαρ. Επιπλέον, η προβιταμίνη D3 υπάρχει επίσης σε τρόφιμα, όπως το συκώτι, ο κρόκος αυγού, το βούτυρο, οι σαρδέλες και ο σολομός. Η προβιταμίνη D3 βοηθά στην απορρόφηση του ασβεστίου από τα οστά, αλλά έχει επίσης ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες. (Antal et al., 2011).

Το εντερικό επιθήλιο βρίσκεται σε συνεχή αλληλεπίδραση με το εξωτερικό περιβάλλον. Η επαρκής ακεραιότητα του φραγμού και η αντιμικροβιακή λειτουργία στις επιθηλιακές επιφάνειες έχουν αποφασιστική σημασία για τη διατήρηση της ομοιόστασης και την πρόληψη της εισβολής ή της υπερανάπτυξης συγκεκριμένων μικροβιακών ειδών. Ένα υγιές εντερικό επιθήλιο και ένα άθικτο στρώμα βλέννας είναι ζωτικής σημασίας για την προστασία από την εισβολή παθογόνων οργανισμών και η βιταμίνη D συμβάλλει στη διατήρηση αυτής της λειτουργίας του φραγμού (Lee C. et al., 2019).

Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι η βιταμίνη D συντελεί στη διατήρηση της ακεραιότητας του φραγμού του εντερικού βλεννογόνου ενισχύοντας τις διακυτταρικές συνδέσεις που ελέγχουν τη διαπερατότητα του βλεννογόνου και μειώνοντας τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως η ιντερλευκίνη IL-8. Επιπλέον, η σηματοδότηση με τη μεσολάβηση του υποδοχέα της βιταμίνης D έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει την επαγόμενη από φλεγμονή απόπτωση εντερικών επιθηλιακών κυττάρων (He L. et al., 2018). Ως αποτέλεσμα αυτών των επιδράσεων στον εντερικό βλεννογόνο, η διατήρηση της επαρκούς συγκέντρωσης βιταμίνης D μπορεί να είναι ουσιώδης για την ανάπτυξη ενός υγιούς μικροβιώματος στο έντερο, ιδιαίτερα σε συνθήκες που ορίζονται από χρόνια φλεγμονή του βλεννογόνου (He L. et al., 2018). Η ενεργός βιταμίνη D3 έχει σημαντική ανοσορρυθμιστική επίδραση στα ανθρώπινα μακροφάγα, μπορεί να αλλάξει το μικροβίωμα της ανώτερης γαστρεντερικής οδού, να μειώσει τα γ-πρωτεοβακτηρίδια (όπως τα *Pseudomonas* και *Escherichia coli*) και να αυξήσει τον βακτηριακό πλούτο (Wafa et al., 2015). Με βάση τα παραπάνω γίνεται κατανοητή η θετική επίδραση της D3 στις γαστρεντερικές παθήσεις (όπως η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου), αλλά και σε πολλές αυτοάνοσες ασθένειες (όπως ο υποθυρεοειδισμός του Hashimoto και η ρευματοειδής αρθρίτιδα). (Kazuhiko et al., 1991, Maurizio Cutolo et al., 2007).

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ**



Το 90% των κυττάρων στο ανθρώπινο σώμα είναι βακτηριακά (αναλογία βακτηριακών κυττάρων προς κύτταρα ανθρώπινου οργανισμού = 10:1). Η σχέση των γονιδίων επίσης είναι συντριπτικά υπέρ των βακτηρίων (3.300.000 γονίδια βακτηρίων / 22.000 ανθρώπινα γονίδια, αναλογία 150:1) (Suresh B., N. Krishna et al., 2019). Λιγότερο από 2% του ανθρώπινου γενώματος κωδικοποιεί πρωτεΐνες, ενώ η πλειοψηφία κωδικοποιείται από το βακτηριακό DNA. Έτσι δεν θα ήταν υπερβολή να πούμε ότι <<ο άνθρωπος είναι φιλοξενούμενος στο σύμπαν των μικροβίων>> (Ehrlich, S.D., 2016).

Οι πρόσφατες εξελίξεις στην έρευνα των μικροβίων παρέχουν συναρπαστικά νέα εργαλεία για την ενίσχυση της ανθρώπινης υγείας. Οι περισσότερες από τις μελέτες που ανασκοπήθηκαν στην παρούσα εργασία απεικόνισαν το μικροβίωμα χρησιμοποιώντας ακολουθία αλληλουχίας 16S rRNA, η οποία χρησιμοποιεί τις υπερμεταβλητές περιοχές του βακτηριακού γονιδίου 16S rRNA για την ταυτοποίηση των βακτηρίων που υπάρχουν σε βιολογικά δείγματα. Η ανάλυση αλληλουχίας 16S rRNA είναι η πιο συνηθισμένη μέθοδος από τους ιατρικούς ερευνητές για τη μελέτη της μικροβιακής σύνθεσης, λόγω του χαμηλού κόστους της και της σχετικά εύκολης ροής εργασίας για την προετοιμασία του δείγματος και τις βιοπληροφορικές αναλύσεις. Ωστόσο, η ανάλυση αλληλουχίας 16S rRNA παρέχει κατά κύριο λόγο πληροφορίες σχετικά με τη μικροβιακή ταυτότητα και δεν λειτουργεί προκειμένου να διερευνηθούν οι λειτουργίες του μικροβίου. Πολλοί ερευνητές έχουν στραφεί σε μια μεταγονιδιωματική προσέγγιση του μικροβιώματος, στην οποία προσδιορίζεται η αλληλουχία ολόκληρου του βακτηριακού γονιδιώματος. Η γνώση των γονιδίων που κωδικοποιούνται από τα βακτήρια που υπάρχουν σε ένα δείγμα επιτρέπει στους ερευνητές να κατανοήσουν καλύτερα το ρόλο τους στην ανθρώπινη υγεία. Με τη μείωση του κόστους της αλληλουχίας επόμενης γενιάς, των βελτιωμένων πρωτοκόλλων προετοιμασίας δειγμάτων και άλλων εργαλείων βιοπληροφορικής διαθέσιμων για μεταγονιδιωματική ανάλυση, αυτή η τεχνική θα είναι ένα ισχυρό εργαλείο για τη μελέτη της λειτουργικότητας των μικροβίων. Η μελέτη του ανθρώπινου μικροβιώματος δέχεται επέκταση και συμπλήρωση από το πεδίο της Βιολογίας Συστημάτων και των προσεγγίσεων μη-στοχευμένης ανάλυσης δειγμάτων για την εύρεση βιοδεικτών με μεθόδους χαρακτηρισμού (omics) των πρωτεϊνών (πρωτεομική ανάλυση) και των μεταβολικών διαδικασιών (μεταβολομική ανάλυση). Η ολιστική αντίληψη της αναλυτικής διαδικασίας είναι κοινή ανάμεσα στα διάφορα πεδία (-omics) (Ozlem Altay et al., 2019). Η εκτέλεση μετααναλύσεων για τη συσχέτιση του μικροβιώματος με γονιδιώματα ξενιστών, μεταγραφημάτων και ανοσοφαινότυπων αποτελεί μια άλλη συναρπαστική οδό για τη διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ανθρώπου και βακτηρίων (Denning, J., 2016).

Η ικανότητα ταχείας ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης των βακτηριακών γενεών του εντέρου βοήθησε να γίνει κατανοητή η επίδραση της διατροφής στη μικροβιακή σύνθεση του ξενιστή. Μελέτες που περιλαμβάνουν πρόσληψη συγκεκριμένου συστατικού της διατροφής επιδεικνύουν τον τρόπο με τον οποίο ορισμένα βακτήρια τείνουν να ανταποκρίνονται στη συγκεκριμένη διατροφική παρέμβαση. Οι πρωτεΐνες, τα λίπη, οι πεπτώμενοι και μη πεπτώμενοι υδατάνθρακες, τα προβιοτικά και οι πολυφαινόλες προκαλούν μετατοπίσεις στο μικροβιακό φορτίο με δευτερογενείς επιδράσεις στους ανοσολογικούς και μεταβολικούς δείκτες του ξενιστή. Για παράδειγμα, η πρόσληψη ζωικής πρωτεΐνης συσχετίζεται θετικά με τη συνολική μικροβιακή ποικιλομορφία, αυξάνει την αφθονία των ανθεκτικών στη χολή οργανισμών, όπως οι *Bacteroides*, *Alistipes* και *Bilophila* και μειώνει τους πληθυσμούς των *Roseburia/E. rectale*. Διατροφή πλούσια σε κορεσμένα λιπαρά φαίνεται να αυξάνει τη συνολική αναερόβια μικροχλωρίδα και τη σχετική αφθονία των *Bacteroides* και *Bilophila*. Ανθρώπινες μελέτες δεν έχουν αναφέρει ότι μια δίαιτα πλούσια σε ακόρεστα λιπαρά μεταβάλλει σημαντικά το βακτηριακό προφίλ του εντέρου. Ωστόσο, μελέτες μύων έχουν αναφέρει αυξήσεις σε *Actinobacteria* (*Bifidobacterium* και *Adlercreutzia*), βακτήρια γαλακτικού οξέος (*Lactobacillus* και *Streptococcus*) και *Verrucomicrobia* (*Akkermansia muciniphila*). Τόσο οι πεπτώμενοι όσο και οι μη αφομοιώσιμοι υδατάνθρακες αναφέρονται συνήθως στη βιβλιογραφία για ρόλο τους στον εμπλουτισμό του εντέρου σε *Bifidobacterium* και την καταστολή της ανάπτυξης των *Clostridia*, ενώ μόνο οι μη αφομοιώσιμοι υδατάνθρακες έχει βρεθεί ότι αυξάνουν επιπρόσθετα τα *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, *Eubacterium rectale* και *Roseburia*. Τέλος, τόσο τα προβιοτικά όσο και οι πολυφαινόλες ενισχύουν το *Bifidobacterium* και τα βακτηρίδια γαλακτικού οξέος, μειώνοντας παράλληλα τα είδη του εντεροπαθογόνου *Clostridia* (Bouchot A. et al., 2018).

Ένα αυξανόμενο σύνολο στοιχείων υποδηλώνει ότι το εντερικό μικροβίωμα έχει σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία. Την τελευταία δεκαετία, οι μικροοργανισμοί του εντέρου έχουν αποδειχθεί ότι παίζουν ρόλο σε ένα ευρύ φάσμα ανθρώπινων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης της παχυσαρκίας, της ψωρίασης, του αυτισμού και των διαταραχών της διάθεσης. Η στενή σχέση ανάμεσα στη διατροφή, στο εντερικό μικροβίωμα και στην υγεία υποδηλώνει ότι πιθανώς η υγεία να μπορεί να βελτιωθεί μέσω της επίδρασης της διατροφής στο εντερικό μικροβίωμα. Ένας τρόπος με τον οποίο η μικροχλωρίδα μπορεί να επηρεάσει την υγεία του ξενιστή είναι με τη ρύθμιση της ανοσίας του ξενιστή. Περαιτέρω έρευνες έχουν αποκαλύψει πιο συγκεκριμένους ρόλους για ορισμένα βακτηριακά είδη στη διαμεσολάβηση για την ανοσία του ξενιστή και συγκεκριμένων ασθενειών. Συγκεκριμένα, τα

τεμαχισμένα νηματοειδή βακτήρια έχει βρεθεί ότι προάγουν την αυτοάνοση αρθρίτιδα μέσω ενισχυμένης απόκρισης στα κύτταρα (T-helper 17 / Th17). Από την άλλη πλευρά, τα βακτηρίδια γαλακτικού οξέος και τα Bifidobacteria είναι γνωστό ότι εκκρίνουν παράγοντες που επιβραδύνουν τη φλεγμονή με μείωση της έκφρασης γονιδίων από τα οποία εξαρτώνται πολλοί χημειοτακτικοί παράγοντες, όπως ο NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), η έκκριση ιντερλευκίνης (IL-8) και άλλες χημειοκίνες που προσελκύουν μακροφάγα. Τα βακτηρίδια γαλακτικού οξέος και τα Bifidobacteria έχει επίσης αποδειχθεί ότι απενεργοποιούν άμεσα τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις μειώνοντας τα κύτταρα T-effectors (CD4+, CD8+), ενώ αυξάνουν την αντιφλεγμονώδη έκφραση των T-ρυθμιστικών κυττάρων (Tregs) σε μύες (Burcelin R., 2016).

Ο ακριβής μηχανισμός για τον τρόπο με τον οποίο η εν λόγω χλωρίδα του εντέρου ρυθμίζει τις ανοσολογικές αποκρίσεις δεν είναι ακόμα κατανοητός. Ωστόσο, αρκετές μελέτες υποδεικνύουν ότι τα SCFAs που προέρχονται από μικροβιακά κύτταρα μπορεί να συνεισφέρουν μέσω υποδοχέων συζευγμένων με την πρωτεΐνη G και επιγενετικών μηχανισμών (Andrade MER et al., 2015). Τα εντερικά SCFAs έχει επίσης αποδειχθεί ότι αυξάνουν άμεσα την αφθονία των ρυθμιστικών κυττάρων T (Tregs) στο έντερο και προστατεύουν από την αλλεργική φλεγμονή των αεραγωγών (Trompette et al., 2014). Επιπλέον, μπορούν να αναστείλουν τον παράγοντα μεταγραφής NF-κB, οδηγώντας σε μειωμένη έκκριση αρκετών προφλεγμονωδών κυτοκινών (Furet et al., 2010). Η χλωρίδα του εντέρου μπορεί επίσης να τροποποιήσει την ανοσία του ξενιστή μέσω επιγενετικών τροποποιήσεων. Για παράδειγμα, το βουτυρικό οξύ που παράγεται από μικρόβια αναστέλλει τις αποακετυλάσες ιστονών 6 και 9, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένη ακετυλίωση του προαγωγού του γονιδίου FOXP3 και στον πολλαπλασιασμό των Tregs (Tilg H, 2015). Η μειωμένη μεθυλίωση των προαγωγών των προφλεγμονωδών γονιδίων TLR2 και FFAR3 συσχετίζεται με μειωμένη συγκέντρωση του *Faecalibacterium prausnitzii* σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 (Remely et al., 2014). Σαφώς το μικροβίωμα του εντέρου έχει ποικίλες επιδράσεις στην ανοσία του ξενιστή και η ισορροπημένη χλωρίδα του εντέρου είναι κρίσιμη για ένα υγιές ανοσοποιητικό σύστημα (Shen W., et al., 2014).

Εκτός από την ανοσία, οι μικροοργανισμοί του εντέρου έχει επίσης αποδειχθεί ότι επηρεάζουν την μεταβολική υγεία του ξενιστή. Τα άτομα με παχυσαρκία και σακχαρώδη διαβήτη έχει αποδειχθεί ότι έχουν εντερική δυσβίωση σε σχέση με τα νορμοβαρή και υγιή άτομα (Karlsson et al., 2013). Περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης μεταξύ των μικροβίων του εντέρου και της παχυσαρκίας έχει αποκαλύψει αρκετές βακτηριακές ομάδες που μπορεί να συμβάλλουν ειδικά στη νόσο. Συγκεκριμένα, τα παχύσαρκα άτομα έχουν υψηλό βασικό λόγο Firmicutes

προς Bacteroidetes. Σε αυτά τα άτομα, παρατηρήθηκε ότι η μείωση της θερμιδικής πρόσληψης μείωσε την αναλογία Firmicutes προς Bacteroidetes. Συγκεκριμένα, οι ξενιστές με μικροβίωμα του εντέρου που κυριαρχείται από το Firmicutes έχουν αυξησει τη μεθυλίωση στους προαγωγούς γονιδίων που συνδέονται με καρδιαγγειακές παθήσεις και παχυσαρκία (Kumar et al., 2014). Επιπλέον, τα *Lactobacillus* spp. έχουν αποδειχθεί ότι ανακουφίζουν τις σχετιζόμενες με την παχυσαρκία μεταβολικές επιπλοκές. Τα ευεργετικά αποτελέσματα των *Lactobacillus* μπορούν να αποδοθούν στις αλληλεπιδράσεις με τα βακτήρια που προάγουν την παχυσαρκία στο έντερο και την άμεση διαφοροποίηση της ανοσίας του ξενιστή και της λειτουργίας του φραγμού του εντέρου (Compare et al., 2012). Είναι ενδιαφέρον ότι τα βακτήρια *A.Muciniphila* που αποικοδομούν τη βλέννα έχουν επίσης συνδεθεί με ένα υγιές μεταβολικό προφίλ. Τα παχύσαρκα άτομα με υψηλότερη βασική σχετική συγκέντρωση του *A.Muciniphila* τείνουν να έχουν μεγαλύτερες βελτιώσεις στις μεταβολικές παραμέτρους που σχετίζονται με την παχυσαρκία (αντίσταση στην ινσουλίνη, τριγλυκερίδια πλάσματος και κατανομή σωματικού λίπους) μετά από διαιτητική παρέμβαση (Dao et al., 2015). Άξιο αναφοράς αποτελεί το γεγονός πως οι μύες που είναι στειροί μικροβίων είναι πιο ανθεκτικοί στην παχυσαρκία που προκαλείται μέσω διατροφής, πιθανώς λόγω του ενισχυμένου μεταβολισμού λιπαρών οξέων απουσία συγκεκριμένης μικροχλωρίδας. Τα παραπάνω καταδεικνύουν τον σημαντικό ρόλο του μικροβιώματος του εντέρου στη διατήρηση της μεταβολικής ακεραιότητας του ξενιστή (Forouhi N.G., et al., 2018).

Ενδεικτικά, έχει αποδειχθεί ότι μια δίαιτα υψηλής λιποπεριεκτικότητας ελαττώνει τα *A.Muciniphila* και *Lactobacillus*, τα οποία συνδέονται με τις υγιείς μεταβολικές καταστάσεις. Αυτή η παρατήρηση αποτελεί καλό παράδειγμα του τρόπου με τον οποίο η διατροφική παρέμβαση θα μπορούσε ενδεχομένως να χρησιμοποιηθεί για τη διαχείριση πολύπλοκων ασθενειών, όπως η παχυσαρκία και ο διαβήτης. Επιπλέον, η πρόοδος στην έρευνα του εντερικού μικροβιώματος έχει προτείνει νέες θεραπευτικές δυνατότητες για ασθένειες που παραδοσιακά ήταν δύσκολο να αντιμετωπιστούν. Για παράδειγμα, η μεταμόσχευση κοπράνων με μικρόβια έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τη διαχείριση πολλών διαφορετικών καταστάσεων, όπως η ελκώδης κολίτιδα, η κολίτιδα που σχετίζεται με το *Clostridium difficile*, το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, ακόμη και η παχυσαρκία. Είναι πιθανό ότι οι δερματολογικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της ψωρίασης και της ατοπικής δερματίτιδας, μπορεί επίσης να μελετηθούν υπό αυτό το πρίσμα, για να επωφεληθούν από την ανασχεδίαση του μικροβιώματος του εντέρου. Η χορτοφαγική διατροφή φαίνεται να πλεονεκτεί σε σχέση με την μεσογειακού τύπου δίαιτα, ενώ και οι δύο διατηρούν το μικροβίωμα σε καλύτερη κατάσταση σε σχέση με την δυτικού τύπου δίαιτα, η

οποία τεκμηριωμένα προδιαθέτει σε πολλούς κινδύνους για την υγεία. Η διατροφή επηρεάζει τους επιγενετικούς μηχανισμούς για την καθιέρωση του φαινοτύπου και πιθανότατα ευθύνεται για την μακροβιότητα και τη γήρανση (Rinninella E., et al., 2018).

Η ιατρική έως και σήμερα βασίζεται στη διατύπωση υποθέσεων και στην επακόλουθη επαλήθευσή τους με την πειραματική διαδικασία. Η μελέτη του ανθρώπινου μικροβιώματος με τη χρήση των πρόσφατων μεθόδων της γονιδιοματικής, αλλάζει αυτή την αλληλουχία, αφού πρώτα πλέον συλλέγονται τα δεδομένα και οι πληροφορίες και έπειτα ακολουθεί η συσχέτισή τους με φυσιολογικές καταστάσεις ή νοσολογικές οντότητες. Η ιατρική ακριβείας είναι μια άλλη ελκυστική, νέα θεραπευτική προσέγγιση για πολλές ασθένειες με ισχυρές γενετικές συσχετίσεις. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ο γονότυπος του ξενιστή παίζει επίσης ρόλο στη διαμόρφωση του μικροβιώματος και ότι αυτή η αλληλεπίδραση ξενιστή-μικροβίων είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της ανθρώπινης υγείας. Επομένως, μια καλύτερη κατανόηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ των γονιδίων, των φαινοτύπων και του μικροβιώματος θα δώσει σημαντικές πληροφορίες για τη χρησιμότητα της ιατρικής ακριβείας (Ava Behrouzi et al., 2019). Η εξατομικευμένη ιατρική είναι ένας από τους σημαντικότερους στόχους της βιολογίας εφαρμοσμένων συστημάτων και της τεχνολογίας omics. Συνδέεται με τη συλλογή πληροφοριών και δεδομένων "omics" (γονιδιοματική, πρωτεωμική, μεταβολική) κάθε ατόμου και κλινικά και περιβαλλοντικά δεδομένα, τα οποία στη συνέχεια σχετίζονται με την ιατρική διάγνωση, τη λήψη ιατρικών αποφάσεων, τα φάρμακα και τη δοσολογία. Πιστεύεται ότι η θεραπεία και η ανταπόκριση του ασθενούς μπορούν να βελτιστοποιηθούν με αυτόν τον τρόπο. Μέχρι στιγμής, ο πιο ανεπτυγμένος τομέας είναι ο τομέας της φαρμακογενετικής. Η χαρτογράφηση γονιδιώματος σε αυτόν τον τομέα είναι απολύτως δυνατή και μπορεί ακόμη και να γίνει από διάφορες ιδιωτικές εταιρείες. Επιπλέον, έχουν προταθεί δεκάδες γενετικοί δείκτες για διάφορες ασθένειες. Η σύγκριση του γονότυπου του ασθενούς με τον γονότυπο αναφοράς μπορεί να αποκαλύψει διαφορές και να δείξει την πιθανότητα ασθένειας. Με βάση αυτές τις πληροφορίες, οι γιατροί μπορούν να διαγνώσουν γρηγορότερα και να θεραπεύσουν πιο αποτελεσματικά · για παράδειγμα, οι γιατροί μπορούν να χρησιμοποιήσουν γενετικές πληροφορίες για να βοηθήσουν στην επιλογή συγκεκριμένων θεραπειών, οι οποίες υποδεικνύουν χαμηλές ή υψηλές αποκρίσεις στα φάρμακα.

Η παρατήρηση ότι η διατροφή μπορεί να ρυθμίσει τις αλληλεπιδράσεις ξενιστή-μικροβίου προσφέρει μια ελπιδοφόρα μελλοντική θεραπευτική προσέγγιση. Ήδη, η μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου έχει βρεθεί ότι επηρεάζει την ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου. Τελευταία, μελετάται η σχέση ανάμεσα στην εντερική μικροχλωρίδα και στην εμφάνιση βαριάς εντερικής βλεννογονίτιδας που παρατηρείται σε ασθενείς ύστερα από τη

χημειοθεραπεία, εφόσον έχει παρατηρηθεί ότι η βακτηριακή ποικιλομορφία μειώνεται ταυτόχρονα (Anna Louise Pouncey et al., 2018). Επομένως, η συμβιωτική εντερική χλωρίδα μπορεί να επηρεάσει την προκαλούμενη από ακτινοβολία αλλά και προκαλούμενη από χημειοθεραπεία βλεννογονίτιδα, και οι αλλαγές στην εντερική χλωρίδα μπορεί να μειώσουν την προστατευτική της δράση έναντι της επιβλαβούς διέγερσης των εντερικών κυττάρων. Αυτό συμβαδίζει με προηγούμενες παρατηρήσεις ότι η χορήγηση προβιοτικών σκευασμάτων μπορεί να μειώσει τις δυσμενείς επιπτώσεις στη λειτουργία του εντέρου κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας ή της ακτινοθεραπείας (Wang et al., 2016).

Πράγματι, η εξατομικευμένη διατροφή είναι μια αναδύομενη έννοια που χρησιμοποιεί έναν αλγόριθμο μηχανικής μάθησης για να προβλέψει τις μεταβολικές αντιδράσεις στα γεύματα. Αυτό το εργαλείο έχει ευρείες συνέπειες για την εξατομικευμένη περίθαλψη των ασθενών μέσω διαιτητικής τροποποίησης. Παρόλο που αυτή η τεχνολογία βρίσκεται σε διαδικασία βελτίωσης και επικύρωσης, η περαιτέρω έρευνα με τη χρήση μεγάλων μακροχρόνιων κλινικών δοκιμών για την αξιολόγηση μιας μεγαλύτερης ποικιλίας συστατικών τροφίμων θα ήταν χρήσιμη για την υποβολή συγκεκριμένων διατροφικών συστάσεων στους ασθενείς (Denning J., 2016).

Τα προβιοτικά είναι μια καλή διατροφική επιλογή ενίσχυσης των συμβιωτικών μικροοργανισμών στον εντερικό σωλήνα με πολλαπλά οφέλη για τον ξενιστή και την υγεία του. Σήμερα ήδη υπάρχει η δυνατότητα του screening των ιδιοτήτων των προβιοτικών στελεχών. Τα προβιοτικά στην μεταγονιδιωματική εποχή θα είναι πιο αποτελεσματικά αφού θα επιλέγονται προβιοτικά στελέχη σχεδιασμένα για το κάθε άτομο ξεχωριστά.

Τα αντιβιοτικά επίσης με τους πολύπλοκους μηχανισμούς δράσης τους προκαλούν δυσβίωση στην εντερική μικροβιακή χλωρίδα, αυξημένη ευαισθησία στις λοιμώξεις, επηρεάζουν την ανοσολογική ομοιόσταση και τη μεταβολική υγεία των ασθενών και κυρίως βοηθούν τους μικροοργανισμούς να αναπτύξουν ανοχή που μεταφέρεται κατά μήκος του εντέρου. Για το λόγο αυτό η άσκοπη κατανάλωσή τους θα έχει καταστρεπτικές συνέπειες στο μέλλον, οι οποίες ήδη γίνονται αντιληπτές στις μέρες μας, με την ανάπτυξη πολλών και πολύ ανθεκτικών μικροβιακών στελεχών στα κοινά αντιβιοτικά. Η χρήση αντιβιοτικών θα πρέπει να ακολουθεί αυστηρούς κανόνες κατόπιν ιατρικής συνταγής. Επιβάλλεται η ταυτοποίηση των μικροβίων, η καλλιέργειά τους και η εφαρμογή αντιβιογράμματος πριν από κάθε χορήγηση.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ**

Συμπερασματικά, η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας υποδηλώνει ότι η δίαιτα μπορεί να τροποποιήσει το εντερικό μικροβίωμα, το οποίο με τη σειρά του μπορεί να έχει θετικό ή αρνητικό αντίκτυπο στη συνολική υγεία ρυθμίζοντας την ανοσία του ξενιστή καθώς και τη μεταβολική του υγεία. Η ευεργετική ή επιβλαβής αυτή επίδραση σχετίζεται με την ταυτότητα και την αφθονία των συστατικών βακτηριακών πληθυσμών.

Στις σύγχρονες, ανεπτυγμένες κοινωνίες παρατηρείται σημαντική αύξηση του βιοτικού επιπέδου των ανθρώπων, επάρκεια αγαθών, ενώ το προσδόκιμο ζωής ξεπερνά πλέον τα 80 έτη και για τα δύο φύλα (Sidney Katz et al., 1983). Παράλληλα η πείνα και νοσήματα που σχετίζονται με την υποθρεψία αποτελούν τις κυριότερες αιτίες θανάτου στις αναπτυγμένες χώρες (McCue, 2012). Αυτές οι κοινωνικοοικονομικές αντιθέσεις καθιστούν το ρόλο των τροφίμων και της διατροφής καθοριστικό, τόσο για την επιβίωση, όσο και την μακροζωία των ανθρώπων. Ο δυτικός τρόπος ζωής που χαρακτηρίζεται από πολλές ανθυγιεινές, διατροφικές συνήθειες, όπως η υπερκατανάλωση τροφίμων ζωικής προέλευσης, πλούσιων σε κορεσμένα λίπη, αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων παθήσεων όπως οι καρδιαγγειακές, ο διαβήτης, και ο καρκίνος. Καθοριστικός είναι ο ρόλος της δημόσιας υγείας που μέσω των πολιτικών αγωγής και προαγωγής της υγείας προασπίζεται και βελτιώνει την υγεία των ανθρώπων. Μέσα από την ευρεία συναίνεση διαφόρων επιστημονικών πεδίων, συνδυασμό γνώσεων και με σύγχρονες προσεγγίσεις, η διεύρυνση της εφαρμογής της δημόσιας υγείας προσφέρει ελπιδοφόρες δυνατότητες. Οι βασικοί πυλώνες των παρεμβάσεων στοχεύουν στη μείωση του καπνίσματος, της κατανάλωσης αλκοόλ, του στρες, με παράλληλη αύξηση της σωματικής άσκησης και της ποιοτικής διατροφής. Τα ανωτέρω αποτελούν πρόληψη για πολλές σύγχρονες παθήσεις, ενώ η μείωση του επιπολασμού των παθήσεων αυτών θα μειώσει το ανθρώπινο κόστος και θα έχει πρόσθετα οικονομικά οφέλη για την κοινωνία.

Η επιστημονική κοινότητα εξακολουθεί να μελετά το ρόλο που παίζουν συγκεκριμένα θρεπτικά συστατικά στη μείωση του επιπολασμού των χρόνιων παθήσεων. Έτσι, παγκοσμίως προτείνεται η υιοθέτηση υγιεινών διατροφικών προτύπων με έμφαση στα φρέσκα φρούτα και λαχανικά, τα όσπρια, τα ψάρια και τα δημητριακά ολικής άλεσης. Συνίσταται περιορισμός στην κατανάλωση κόκκινου κρέατος και επεξεργασμένων αλλαντικών, καθώς και τυριών και γαλακτοκομικών πλούσιων σε λιπαρά. Επίσης, επιβάλλεται ο περιορισμός στα αναψυκτικά και άλλα τρόφιμα που περιέχουν πρόσθετα σάκχαρα. Η μεσογειακή δίαιτα φαίνεται να κυριαρχεί ανάμεσα στα λοιπά πρότυπα, όχι μόνο για την επίδρασή της στο μικροβίωμα, αλλά και για μια πληθώρα συστατικών που λειτουργούν προστατευτικά για τον οργανισμό. Αυτά

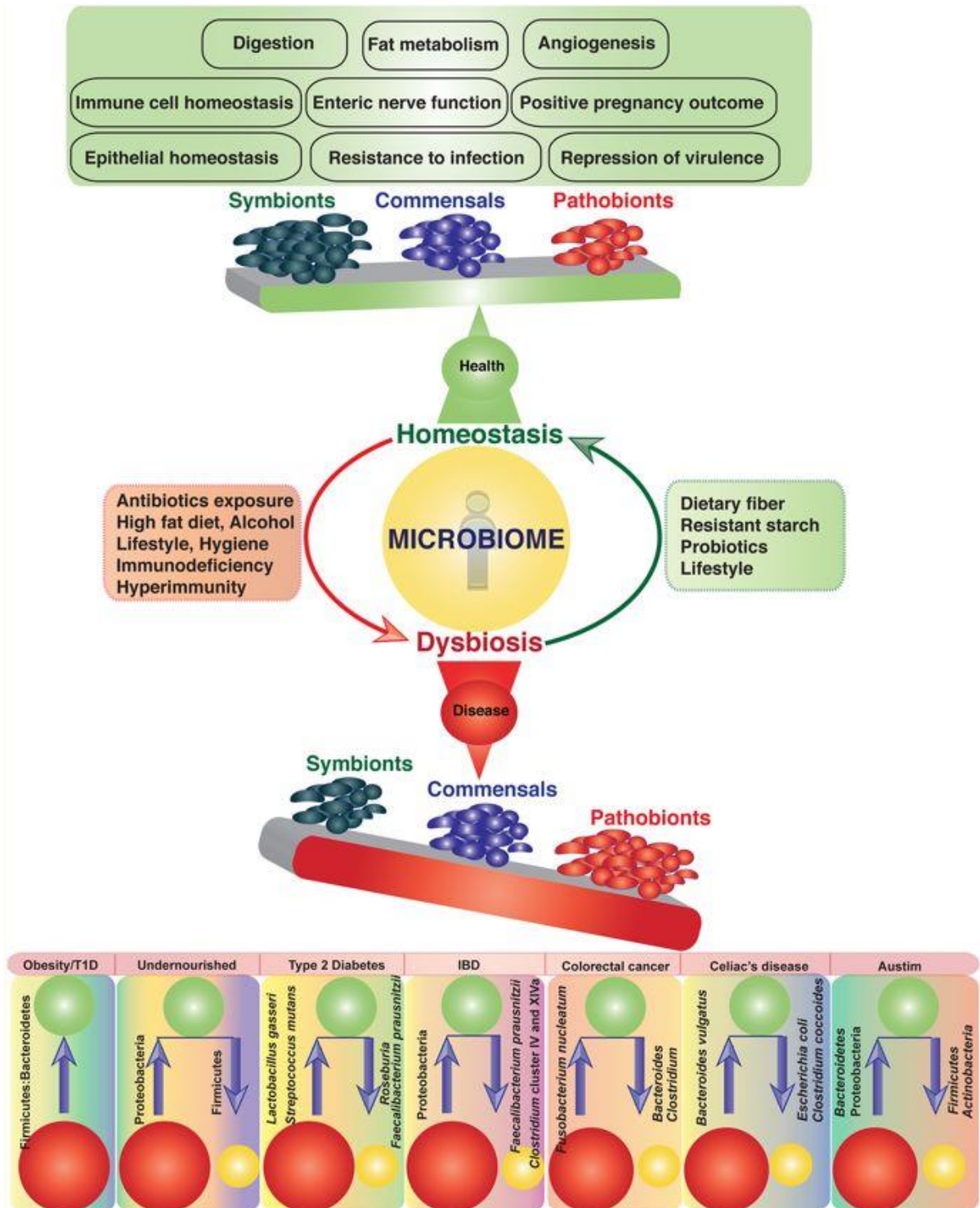


περιλαμβάνουν το απαραίτητο ιχνοστοιχείο σελήνιο, τη γλουταθειόνη που είναι ένα αντιοξειδωτικό τριπεπίδιο (γλουταμινικό οξύ-κυστεΐνη-γλυκίνη), τη ρεσβερατρόλη του κρασιού, άλλες πολυφαινόλες του ελαιόλαδου, το β-καροτένιο, τη λουτεΐνη, το λυκοπένιο, βιταμίνες C, E, φυλλικό, ισορροπημένη σχέση ω-6 : ω-3 λιπαρών οξέων κ.α. Η συγκεκριμένη διαίτα έχει συσχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο για ποικίλες χρόνιες παθήσεις. Η διαίτα αποτελεί μόνο μια προσέγγιση για να προληφθούν οι ασθένειες. Η μειωμένη πρόσληψη θερμίδων και συνεπώς η διατήρηση φυσιολογικού σωματικού βάρους, η τακτική σωματική άσκηση καθώς και η αποφυγή του καπνίσματος, είναι επίσης στρατηγικές που πρέπει να ακολουθούνται.

Πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η προβλεπτική ισχύς του μικροβιώματος υπερβαίνει εκείνη των μελετών συσχέτισης σε όλο το γονιδίωμα, όσον αφορά στη διάκριση σύνθετων ανθρώπινων ασθενειών, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι οι μικροβιοδομικοί δείκτες ξεπερνούν την ανθρώπινη γενετική στην πρόβλεψη του φαινοτύπου του ξενιστή (Braden T. Tierney et al., 2019). Τα μικρόβια, λοιπόν, που υπάρχουν στο ανθρώπινο σώμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης πρόγνωσης μελλοντικών ασθενειών, γεγονός που, όπως γίνεται εύκολα αντιληπτό, τα καθιστά πολύ σημαντικά για την ιατρική κοινότητα. Είναι ελπιδοφόρο ότι η επιστημονική κοινότητα πλησιάζει σε ένα σημείο, όπου θα μπορούν να αναπτυχθούν διαγνωστικές εξετάσεις και θεραπείες με βάση το μικροβίωμα.

«Μελλοντικά το μικροβίωμα μπορεί να αποτελέσει, τόσο θεραπεία, όσο και δείκτη πρόγνωσης του κινδύνου εμφάνισης νόσων. Πιθανή θεωρείται η πρόβλεψη παραμέτρων υγείας, όπως τα επίπεδα σακχάρου, χοληστερόλης, καθώς και ο κίνδυνος εμφάνισης νόσων, όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα και ο σακχαρώδης διαβήτης από τη μελέτη του μικροβιώματος. Με ένα δείγμα αίματος και ένα δείγμα κοπράνων είναι πιθανό ότι θα γίνεται πρόβλεψη του κινδύνου εμφάνισης σοβαρών νοσημάτων, γεγονός σημαντικό, καθώς έτσι θα καθίσταται εφικτή η ανάληψη προληπτικών δράσεων για την αποφυγή της εκδήλωσής τους.»

Εικόνα 14. Ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στην υγεία και στην ασθένεια. Διάφοροι παράγοντες συμπεριλαμβανομένων της διαίτας, των αντιβιοτικών και γενετικοί παράγοντες του ξενιστή μπορεί να επιδράσουν στη μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου προκαλώντας δυσβίωση η οποία προάγει την φλεγμονή και άλλες διαταραχές στην υγεία.



Πηγή: /Das, B., Ghosh, T.S., Kedia, S. et al. Analysis of the Gut Microbiome of Rural and Urban Healthy Indians Living in Sea Level and High Altitude Areas. *Sci Rep* 8, 10104 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28550-3/>

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - ΠΗΓΕΣ

Agans R., Gordon A., Kramer D.L., Perez-Burillo S., Rufián-Henares J.A., Paliy O. Dietary fatty acids sustain the growth of the human gut microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.* 2018

Alou Maryam Tidjani, Lagier Jean-Christophe, Raoult Didier.. Diet influence on the gut microbiota and dysbiosis related to nutritional Disorders. *Human Microbiome Journal.* 1 3–11. 2016

Andrade MER, Araújo RS, de Barros PAV, Soares ADN, Abrantes FA, Generoso S, de Vasconcelos Generoso S, et al. The role of immunomodulators on intestinal barrier homeostasis in experimental models. *Clin Nutr.* 2015;34:1080–7.

Anna Louise Pouncey, Alasdair James Scott, James Leslie Alexander, Julian Marchesi, James Kinross, Gut microbiota, chemotherapy and the host: the influence of the gut microbiota on cancer treatment, 2018

Atarashi K., Tanoue T., Oshima K., Suda W., Nagano Y., Nishikawa H., Fukuda S., Saito T., Narushima S., Hase K., et al. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature.* 2013

Atarashi K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., et al. (2011). Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 331, 337–341. doi:10.1126/science.1198469

Attila S. Antal, Yvonne Dombrowski, Sarah Koglin, Thomas Ruzicka & Jürgen Schaubert (2011) Impact of vitamin D3 on cutaneous immunity and antimicrobial peptide expression, *Dermato-Endocrinology*, 3:1, 18-22, DOI: 10.4161/derm.3.1.14616

Ava Behrouzi, Amir Hossein Nafari, Seyed Davar Siadat, The significance of microbiome in personalized medicine, 2019

BARZEGARI A, SAEI AA. Designing probiotics with respect to the native microbiome. *Future Microbiol* 2012, 7:571–575

Bonder MJ, Tigchelaar EF, Cai X, Trynka G, Cenit MC, Hrdlickova B, et al. The influence of a short-term gluten-free diet on the human gut microbiome. *Genome Med.* 2016;8:45. Available from:

<http://genomemedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13073-016-0295-y>.

Bouchot A., Dardevet D., Morio B., Cani P.D., et al. The transplantation of  $\omega$ 3 PUFA–Altered Gut microbiota of FAT-1 mice to wild-type littermates prevents obesity and associated metabolic disorders. *Diabetes.* 2018

Boyd, N., Stone, J., Vogt, K. *et al.* Dietary fat and breast cancer risk revisited: a meta-analysis of the published literature. *Br J Cancer* **89**, 1672–1685 (2003).

<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601314>

Braden T Tierney, Yixuan He, George M Church, Eran Segal, D Kostic, J Patel, The predictive power of the microbiome exceeds that of genome-wide association studies in the discrimination of complex human disease, 2019

Burcelin Rémy. Gut microbiota and immune crosstalk in metabolic disease. *Molecular Metabolism.* 5 771e781. 2016

CABRERA-RUBIO R, COLLADO MC, LAITINEN K, SALMINEN S, ISO LAURI E, MIRA A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr* 2012, 96:544–551

Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Bäckhed F. Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling. *CellMetab.*2015;22:658–68.

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413115003897>.

Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes.* 2008;57:1470–81.

Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., et al. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 56, 1761–1772.

- Cardinelli CS, Sala PC, Alves CC, Torinchas RS, Waitzberg DL, (2014). Influence of Intestinal Microbiota on Body Weight Gain: a Narrative Review of the Literature. *Obesity Surgery* 25(2) · December 2014. DOI: 10.1007/s11695-014-1525-2
- Carvalho-Wells AL, Helmolz K, Nodet C, Molzer C, Leonard C, McKeivith B, et al. Determination of the in vivo prebiotic potential of a maize-based whole grain breakfast cereal: a human feeding study. *Br J Nutr.* 2010;104:1353–6.
- Cerutti,A., and Rescigno,M. (2008). The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity* 28, 740–750.doi:10.1016/j.immuni.2008.05.001
- Chen HM, Yu YN, Wang JL, Lin YW, Kong X, Yang CQ, et al. Decreased dietary fiber intake and structural alteration of gut microbiota in patients with advanced colorectal adenoma. *Am J Clin Nutr.* 2013;97:1044–52.
- Chen, J. W., Scaria, J., Mao, C., Sobral, B., Zhang, S., Lawley, T., et al. (2013) Proteomic comparison of historic and recently emerged hypervirulent *Clostridium difficile* strains. *J. Proteome Res.* 12, 1151–1161. doi: 10.1021/pr3007528
- Christine L Pelkman, Valerie K Fishell, Deborah H Maddox, Thomas A Pearson, David T Mauger, Penny M Kris-Etherton, Effects of moderate-fat (from monounsaturated fat) and low-fat weight-loss diets on the serum lipid profile in overweight and obese men and women, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 79, Issue 2, February 2004, Pages 204–212, <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.2.204>
- Claesson, M., Clooney, A. & O'Toole, P. A clinician's guide to microbiome analysis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 14, 585–595 (2017). <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.97>
- Clark, A., Mach, N. Exercise-induced stress behavior, gut-microbiota-brain axis and diet: a systematic review for athletes. *J Int Soc Sports Nutr* 13, 43 (2016). <https://doi.org/10.1186/s12970-016-0155-6>
- Clemente, J. C., Pehrsson, E. C., Blaser, M. J., Sandhu, K., Gao, Z., Wang, B., et al. (2015). The microbiome of uncontacted Amerindians. *Sci. Adv.* 348:e1500183.

Compare D, Coccoli P, Rocco A, Nardone OM, De Maria S, Carteni M, et al. Gut–liver axis: The impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012;22:471–6.

Costello, E. K., Lauber, C. L., Hamady, M., Fierer, N., Gordon, J. I., & Knight, R. (2009). Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time. *Science (New York, N.Y.)*, 326(5960), 1694–1697. doi: <http://doi.org/10.1126/science.1177486>.

Cuervo A, Hevia A, López P, Suárez A, Diaz C, Sánchez B, et al. Phenolic compounds from red wine and coffee are associated with specific intestinal microorganisms in allergic subjects. *Food Funct.* 2015.

Daniel H., Gholami A.M., Berry D., Desmarchelier C., Hahne H., Loh G., Mondot S., Lepage P., Rothballer M., Walker A., et al. High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice. *ISME J.* 2014

Dao MC, Everard A, Aron-Wisnewsky J, Sokolovska N, Prifti E, Verger EO, et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut.* 2015.

David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 2014;505:559–63.

De Filippis F, Pellegrini N, Vannini L, Jeffery IB, La Stora A, Laghi L, et al. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut.* 2015;gutjnl-2015. <http://gut.bmj.com/lookup/doi/10.1136/gutjnl-2015-309957>.

De Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2008;111:1–66.

De Wit N., Derrien M., Bosch-Vermeulen H., Oosterink E., Keshtkar S., Duval C., de Vogel-van den Bosch J., Kleerebezem M., Müller M., van der Meer R. Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2012

Dening, J. Mediterranean Diet with Olive Oil Shown to Modulate Gut Bacteria, Improve Insulin Sensitivity and Metabolic Syndrome. [online] Olive Oil Times. Available at: <https://www.oliveoiltimes.com/olive-oil-health-news/mediterranean-diet-with-olive-oilshown-to-modulate-gut-bacteria-improve-insulin-sensitivity-and-metabolicsyndrome/50505> 2016

Dethlefsen L. and Relman D.A. (2011). Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108(Suppl.1), 4554–4561. doi: 10.1073/pnas.1000087107

Dietary fats: total fat and fatty acids in: dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). Washington, DC: National Academies Press; 2002. p. 335–432.

Dimmitt, R.A., Staley, E.M., Chuang, G., Tanner, S.M., Soltau, T.D., and Lorenz, R. G. (2010). Role of postnatal acquisition of the intestinal microbiome in the early development of immune function. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 51, 262–273. doi:10.1097/MPG.0b013e3181e1a114

Dirk Gevers, Rob Knight, Joseph F. Petrosino, Katherine Huang, Amy L. McGuire, Bruce W. Birren, Karen E. Nelson, Owen White, Barbara A. Methé, Curtis Huttenhower, The Human Microbiome Project: A Community Resource for the Healthy Human Microbiome, 2012

Drasar BS, Crowther JS, Goddard P, Hawksworth G, Hill MJ, Peach S, et al. The relation between diet and the gut microflora in man. *Proc Nutr Soc.* 2007;32:49–52. [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S0029665173000170](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0029665173000170).

Dufour, V., Millon, L., Faucher, J. F., Bard, E., Robinet, E., Piarroux, R., et al. (2005). Effects of a short-course of amoxicillin/clavulanic acid on systemic and mucosal immunity in healthy adult humans. *Int. Immunopharmacol.* 5, 917–928. doi: 10.1016/j.intimp.2005.01.007

Ehrlich S.D., The MetaHIT Consortium (2011) MetaHIT: The European Union Project on Metagenomics of the Human Intestinal Tract. In: Nelson K. (eds) *Metagenomics of the Human Body*. Springer, New York, NY, First Online 11 October 2010, DOI [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7089-3\\_15](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7089-3_15)

Ehrlich, S.D., (2016). The human gut microbiome impacts health and disease. *Comptes Rendus Biologies.* 339(7-8), 319-323. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.crvi.2016.04.008>

Eid N, Enani S, Walton G, Corona G, Costabile A, Gibson G, et al. The impact of date palm fruits and their component polyphenols, on gut microbial ecology, bacterial metabolites and colon cancer cell proliferation. *J Nutr Sci.* 2014;3:e46. [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S2048679014000160](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S2048679014000160).

F. Gypas, A, F. A. Mentis, Review: Human microbiome and the methods of its study – metagenomics, 2014

Fava F, Gitau R, Griffin BA, Gibson GR, Tuohy KM, Lovegrove JA. The type and quantity of dietary fat and carbohydrate alter faecal microbiome and short-chain fatty acid excretion in a metabolic syndrome “at-risk” population. *Int J Obes (Lond).* 2013;37:216–23.

Field, W., and Hershberg, R. (2015). Alarming high segregation frequencies of quinolone resistance alleles within human and animal microbiomes are not explained by direct clinical antibiotic exposure. *Genome Biol. Evol.* 7, 1743–1757. doi: 10.1093/gbe/evv102

Foligné B, Parayre S, Cheddani R, Famelart MH, Madec MN, Plé C, et al. Immunomodulation properties of multi-species fermented milks. *Food Microbiol.* 2016;53:60–9.

Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome in US populations. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America.* 2004 Jun;33(2):333-350. DOI: 10.1016/j.ecl.2004.03.004.

Forouhi N.G., Krauss R.M., Taubes G., Willett W. Dietary fat and cardiometabolic health: Evidence, controversies, and consensus for guidelines. *BMJ.* 2018

Forslund, K., Sunagawa, S., Kultima, J. R., Mende, D. R., Arumugam, M., Tydas, A., et al. (2013). Country-specific antibiotic use practices impact the human gut resistome. *Genome Res.* 23, 1163–1169. doi: 10.1101/gr.155465.113



Francavilla R, Calasso M, Calace L, Siragusa S, Ndagijimana M, Vernocchi P, et al. Effect of lactose on gut microbiota and metabolome of infants with cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012;23:420–7.

Francino, M. P. (2014). Early development of the gut microbiota and immune health. *Pathogens* 3, 769–790. doi: 10.3390/pathogens3030769

François IEJA, Lescroart O, Veraverbeke WS, Marzorati M, Possemiers S, Hamer H, et al. Effects of wheat bran extract containing arabinoxylan oligosaccharides on gastrointestinal parameters in healthy preadolescent children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014;58:647–53.

Furet JP, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes.* 2010;59:3049–57.

Glenn R. Gibson, Marcel B. Roberfroid, Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics, *The Journal of Nutrition*, Volume 125, Issue 6, June 1995, Pages 1401–1412, <https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401>

Glick-Bauer M, Yeh M-C. (2014). The health advantage of a vegan diet: exploring the gut microbiota connection. *Nutrients.* 6 (11):4822e38.

Gosalbes, M. J., Valles, Y., Jimenez-Hernandez, N., Balle, C., Riva, P., Miravet-Verde, S., et al. (2015). High frequencies of antibiotic resistance genes in infants' meconium and early fecal samples. *J. Dev. Orig. Health Dis.* 1–10. [Epub ahead of print].

Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P, J. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999 Jan; 28(1):19-25.

GUEIMONDE M, COLLADO MC. Metagenomics and probiotics. *Clin Microbiol Infect* 2012, 18(Suppl 4):32–34

Gut Microbiota for Health. (2019). Gut Microbiota Info - Gut Microbiota for Health. [online] Available at: <http://www.gutmicrobiotaforhealth.com/en/about-gut-microbiota-info/> [Accessed 3 Jun. 2019].

Gutiérrez-Díaz I., Fernández-Navarro T., Salazar N., Bartolomé B., Moreno-Arribas M.V., de Andres-Galiana E.J., Fernández-Martínez J.L., de los Reyes-Gavilán C.G., Gueimonde M., González S. Adherence to a Mediterranean diet influences the faecal metabolic profile of microbial-derived phenolics in a Spanish cohort of middle-age and older people. *J. Agric. Food Chem.* 2016.

Halmos EP, Christophersen CT, Bird AR, Shepherd SJ, Gibson PR, Muir JG. Diets that differ in their FODMAP content alter the colonic luminal microenvironment. *Gut.* 2015;64:93–100.

Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, Welling GW, J. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000 Jan; 30(1):61-7.

Haro C., García-Carpintero S., Rangel-Zúñiga O.A., Alcalá-Díaz J.F., Landa B.B., Clemente J.C., Pérez-Martínez P., López-Miranda J., Pérez-Jiménez F., Camargo A., et al. Consumption of two healthy dietary patterns restored microbiota dysbiosis in obese patients with metabolic dysfunction. *Mol. Nutr. Food Res.* 2017

He L, Liu T, Shi Y, Tian F, Hu H, Deb DK, Chen Y, Bissonnette M, Li YC., Gut Epithelial Vitamin D Receptor Regulates Microbiota-Dependent Mucosal Inflammation by Suppressing Intestinal Epithelial Cell Apoptosis. *Endocrinology.* 2018 Feb 1;159(2):967-979. doi: 10.1210/en.2017-00748.

Hernandez,E.,Bargiela,R.,Diez,M.S.,Friedrichs,A.,Perez-Cobas,A.E., Gosalbes,M.J.,etal.(2013).Functional consequences of microbial shifts in the human gastrointestinal tract linked to antibiotic treatment and obesity. *Gut Microbes* 4, 306–315.doi:10.4161/gmic.25321

HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM. Structure, functions and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012, 486:207–214

Inna Sekirov, Shannon L. Russell, L. Caetano M. Antunes, and B. Brett Finlay, Gut Microbiota in Health and Disease, 01 JUL 2010 <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009>

- Ivanov, I. I., Atarashi, K., Manel, N., Brodie, E. L., Shima, T., Karaoz, U., et al. (2009). Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 139, 485–498. doi: 10.1016/j.cell.2009.09.033
- Jason A.Reuter, Damek V.Spacek, Michael P.Snyder, High-Throughput Sequencing Technologies, 2015 , <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.004>
- Jedrychowski, W., Galas, A., Whyatt, R., and Perera, F. (2006). The prenatal use of antibiotics and the development of allergic disease in one year old infants. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 19, 70–76. doi: 10.2478/v10001-006-0010-0
- Jeffery I, O’Toole P. Diet-microbiota interactions and their implications for healthy living. *Nutrients*. 2013;5:234–52. <http://www.mdpi.com/2072-6643/5/1/234/>.
- JEFFERY IB, CLAEISSON MJ, O’TOOLE PW, SHANAHAN F. Categorization of the gut microbiota: Enterotypes or gradients? *Nat Rev Microbiol* 2012, 10:591–592
- Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, Bäckhed F. Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes*. 2013;62:3341–9.
- Kashtanova Daria A, Popenko Anna S, Tkacheva Olga N, Tyakht Alexander B, Alexeev Dimitry G, Boytsov Sergey A. (2016). Association between the gut microbiota and diet: Fetal life, early childhood, and further life. *Nutrition*. 32,620–627.
- Kazuhiko Umesono, Kevin K. Murakami, Catherine C. Thompson, Ronald M. Evans, Direct repeats as selective response elements for the thyroid hormone, retinoic acid, and vitamin D3 receptors, *Cell*, Volume 65, Issue 7, 1991, Pages 1255-1266, ISSN 0092-8674, [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90020-Y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90020-Y).
- Kim MS, Hwang SS, Park EJ, Bae JW. Strict vegetarian diet improves the risk factors associated with metabolic diseases by modulating gut microbiota and reducing intestinal inflammation. *Environ Microbiol Rep*. 2013;5:765–75.
- Knoop, K. A., McDonald, K. G., Kulkarni, D. H., and Newberry, R. D. (2015). Antibiotics promote inflammation through the translocation of native commensal colonic bacteria. *Gut* [Epub ahead of print].

Koh G.Y., Kane A., Lee K., Xu Q., Wu X., Roper J., Mason J.B., Crott J.W. *Parabacteroides distasonis* attenuates toll-like receptor 4 signaling and Akt activation and blocks colon tumor formation in high-fat diet-fed azoxymethane-treated mice. *Int. J. Cancer*. 2018

Kris-Etherton PM. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*. 2002;106:2747–57.  
<http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.0000038493.65177.94>.

Kumar H, et al. Gut microbiota as an epigenetic regulator: pilot study based on whole-genome methylation analysis. *MBio*. 2014;5:e02113–14.  
<http://mbio.asm.org/content/5/6/e02113-14.short>.

Lagier, J., Khelaifia, S., Alou, M. et al. Culture of previously uncultured members of the human gut microbiota by culturomics. *Nat Microbiol* 1, 16203 (2016).  
<https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.203>

Landman C. et Quévrain E. (2016). Gut microbiota: Description, role and pathophysiologic implications. *La Revue de médecine interne*. 37 418–423.

Lecomte V, Kaakoush NO, Maloney CA, Raipuria M, Huinao KD, Mitchell HM, et al. Changes in gut microbiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters. *PLoS ONE*. 2015;10:e0126931.  
<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0126931>.

Lee C, Lau E, Chusilp S, Filler R, Li B, Zhu H, Yamoto M, Pierro A, Protective effects of vitamin D against injury in intestinal epithelium. *Pediatr Surg Int*. 2019 Dec;35(12):1395-1401. doi: 10.1007/s00383-019-04586-y. Epub 2019 Oct 14.

Lee, J., O'Keefe, J., Lavie, C. et al. Omega-3 fatty acids: cardiovascular benefits, sources and sustainability. *Nat Rev Cardiol* 6, 753–758 (2009).  
<https://doi.org/10.1038/nrcardio.2009.188>

Leitch ECM, Walker AW, Duncan SH, Holtrop G, Flint HJ. Selective colonization of insoluble substrates by human faecal bacteria. *Environ Microbiol*. 2007;9:667–79.

- Levine ME, Suarez JA, Brandhorst S, Balasubramanian P, Cheng CW, Madia F, et al. Low protein intake is associated with a major reduction in IGF-1, cancer, and overall mortality in the 65 and younger but not older population. *Cell Metab.* 2014;19:407–17.
- Li J., H. Jia, X. Cai, H. Zhong, Q. Feng, et al. (2014). An integrated reference gene catalog of the human gut microbiome. *Nat. Biotechnol.*, 32, pp. 834-841
- Liu JE, Zhang Y, Zhang J, Dong PL, Chen M, Duan ZP. Probiotic yogurt effects on intestinal flora of patients with chronic liver disease. *Nurs Res.* 2010;59:426–32.
- Liu Simin· Manson, JoAnn E. Dietary carbohydrates, physical inactivity, obesity, and the ‘metabolic syndrome’ as predictors of coronary heart disease, *Current Opinion in Lipidology*: August 2001 - Volume 12 - Issue 4 - p 395-404
- Lopez-Legarrea P, Fuller NR, Zulet MA, Martinez JA, Caterson ID. The influence of Mediterranean, carbohydrate and high protein diets on gut microbiota composition in the treatment of obesity and associated inflammatory state. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2014;23:360–8.
- Macfarlane, G.T., and Macfarlane,S. (2011). Fermentation in the human large intestine: its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics. *J. Clin. Gastroenterol.* 45(Suppl.),S120–S127.doi: 10.1097/MCG.0b013e31822fecfe
- Mai, V., Torrazza, R. M., Ukhanova, M., Wang, X., Sun, Y., Li, N., et al. (2013). Distortions in development of intestinal microbiota associated with late onset sepsis in preterm infants. *PLoS ONE* 8:e52876. doi: 10.1371/journal.pone.0052876
- Malinen E, Rinttilä T, Kajander K, Mättö J, Kassinen A, Krogius L, et al. Analysis of the fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients and healthy controls with real-time PCR. *Am J Gastroenterol.* 2005;100:373–82.
- Manichanh, C., Rigottier-Gois, L., Bonnaud, E., Gloux, K., Pelletier, E., Frangeul, L., et al. (2006). Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn’s disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* 55, 205–211. doi: 10.1136/gut.2005.073817
- Margit Hamosh PhD. Bioactive Factors in Human Milk. *Pediatric Clinics of North America* Volume 48, Issue 1, 1 February 2001, Pages 69-86. [https://doi.org/10.1016/S0031-3955\(05\)70286-8](https://doi.org/10.1016/S0031-3955(05)70286-8)

Marra,F., Marra,C.A., Richardson,K., Lynd, L.D., Kozyrskyj,A., Patrick,D.M., et al. (2009). Antibiotic use in children is associated with increased risk of asthma. *Pediatrics* 123, 1003–1010.doi:10.1542/peds.2008-1146

Martínez I, Lattimer JM, Hubach KL, Case JA, Yang J, Weber CG, et al. Gut microbiome composition is linked to whole grain-induced immunological improvements. *ISME J.* 2013;7:269–80.

Matsumoto K, Takada T, Shimizu K, Moriyama K, Kawakami K, Hirano K, et al. Effects of a probiotic fermented milk beverage containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on defecation frequency, intestinal microbiota, and the intestinal environment of healthy individuals with soft stools. *J Biosci Bioeng.* 2010;110:547–52.

Maurice, C. F., Haiser, H. J., and Turnbaugh, P. J. (2013). Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell* 152, 39–50. doi: 10.1016/j.cell.2012.10.052

Maurizio Cutolo, Kati Otsa, Maria Uprus, Sabrina Paolino, Bruno Seriolo, Vitamin D in rheumatoid arthritis, *Autoimmunity Reviews*, Volume 7, Issue 1, 2007, Pages 59-64, ISSN 1568-9972, <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2007.07.001>.

MAZMANIAN SK, LIU CH, TZIANABOS AO, KASPER DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* 2005, 122:107–118

McCue M.D. (2012) An Introduction to Fasting, Starvation, and Food Limitation. In: McCue M. (eds) *Comparative Physiology of Fasting, Starvation, and Food Limitation*. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-29056-5\\_](https://doi.org/10.1007/978-3-642-29056-5_)

McRorie J.W. Evidence-based approach to fiber supplements and clinically meaningful health benefits, Part 2: What to look for and how to recommend an effective fiber therapy. *Nutr. Today.* 2015

Mendall, M.A., and Kumar, D. (1998). Antibiotic use, childhood affluence and irritable bowel syndrome (IBS). *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 10, 59–62.doi: 10.1097/00042737-199801000-00011

Michael R.Charlton (2005). Protein metabolism and liver disease. *Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism*, ISSN: 0950-351X, Vol: 10, Issue: 4, Page: 617-635

Mitsou E.K., Kakali A., Antonopoulou S., Mountzouris K.C., Yannakoulia M., Panagiotakos D.B., Kyriacou A. Adherence to the Mediterranean diet is associated with the gut microbiota pattern and gastrointestinal characteristics in an adult population. *Br. J. Nutr.* 2017

Murray, C. S., Tannock, G. W., Simon, M. A., Harmsen, H. J., Welling, G. W., Custovic, A., et al. (2005). Fecal microbiota in sensitized wheezy and non-sensitized non-wheezy children: a nested case-control study. *Clin. Exp. Allergy* 35, 741–745. doi: 10.1111/j.1365-2222.2005.02259.x

Nils-Georg Asp, Inger Björck, Margareta Nyman, Physiological effects of cereal dietary fibre, *Carbohydrate Polymers*, Volume 21, Issues 2–3,1993,Pages 183-187, ISSN 0144-8617, [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(93\)90016-W](https://doi.org/10.1016/0144-8617(93)90016-W).

Oriach Clara Seira, Ruairi C. Robertson, Catherine Stanton, John F. Cryan, Timothy G. Dinan, Food for thought: The role of nutrition in the microbiota-gut–brain axis 2016, <https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2016.01.003>

Ozlem Altay, Jens Nielsen, Mathias Uhlen, Jan Boren, Adil Mardinoglu, Systems biology perspective for studying the gut microbiota in human physiology and liver diseases, 2019

Pallecchi, L., Lucchetti, C., Bartoloni, A., Bartalesi, F., Mantella, A., Gamboa, H., et al. (2007). Population structure and resistance genes in antibiotic-resistant bacteria from a remote community with minimal antibiotic exposure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, 1179–1184. doi: 10.1128/AAC.01101-06

Pandey, K.R., Naik, S.R. & Vakil, B.V. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *J Food Sci Technol* **52**, 7577–7587 (2015). <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1921-1>

Park JE, Seo JE, Lee JY, Kwon H. Distribution of seven N-nitrosamines in food. *Toxicol Res.* 2015;31:279–88.

Penders, J., Stobberingh, E. E., Thijs, C., Adams, H., Vink, C., van Ree, R., et al. (2006). Molecular fingerprinting of the intestinal microbiota of infants in whom atopic eczema was or was not developing. *Clin. Exp. Allergy* 36, 1602–1608. doi: 10.1111/j.1365-2222.2006.02599.x

Perez-Cobas, A. E., Gosalbes, M. J., Friedrichs, A., Knecht, H., Artacho, A., Eismann, K., et al. (2012). Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach. *Gut* 62, 1591–1601. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303184

Proctor, Lita M., Creasy, Heather H., Fettweis, Jennifer M., Lloyd-Price, Jason, Mahurkar, Anup, Zhou, Wenyu, Buck, Gregory A., Snyder, Michael P., Strauss, Jerome F., Weinstock, George M., White, Owen Huttenhower, Curtis, The Integrative Human Microbiome Project (iHMP) Research Network Consortium, 2019

Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., ... Wang, J. (2010). A human gut microbial gene catalog established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464(7285), 59–65. Doi: <http://doi.org/10.1038/nature08821>

Rajkumar H, Mahmood N, Kumar M, Varikuti SR, Challa HR, Myakala SP. Effect of probiotic (VSL#3) and omega-3 on lipid profile, insulin sensitivity, inflammatory markers, and gut colonization in overweight adults: a randomized, controlled trial. *Med Inflamm*. 2014;2014:348959.

Remely M, et al. Effects of short chain fatty acid producing bacteria on epigenetic regulation of FFAR3 in type 2 diabetes and obesity. *Gene*. 2014;537:85–92.

Rinninella Emanuele, Maria Cristina Mele, Nicolò Merendino, Marco Cintoni, Gaia Anselmi, Aldo Caporossi, Antonio Gasbarrini, Angelo Maria Minnella, The Role of Diet, Micronutrients and the Gut Microbiota in Age-Related Macular Degeneration: New Perspectives from the Gut–Retina Axis, *Nutrients*. 2018 Nov; 10(11): 1677. Published online 2018 Nov 5. doi: 10.3390/nu10111677

Risnes, K. R., Belanger, K., Murk, W., and Bracken, M. B. (2011). Antibiotic exposure by 6 months and asthma and allergy at 6 years: findings in a cohort of 1,401 US children. *Am. J. Epidemiol.* 173, 310–318. doi: 10.1093/aje/kwq400

Samuel, B. S., Shaito, A., Motoike, T., Rey, F. E., Backhed, F., Manchester, J. K., et al. (2008). Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 16767–16772. doi: 10.1073/pnas.0808567105

Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult humans. *Gut Microbes*. May-Jun 2010;1(3):135-7. doi: 10.4161/gmic.1.3.11868. Epub 2010 Mar 16.



- Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C., and Finlay, B. B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.* 90, 859–904. doi: 10.1152/physrev.00045.2009
- Shen J, Zuo ZX, Mao AP. Effect of probiotics on inducing remission and maintaining therapy in ulcerative colitis, Crohn's disease, and pouchitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20:2135. <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00054725-201401000-00004>.
- Shen W., Wolf P.G., Carbonero D.F., Zhong W., Reid T., Gaskins H.R., McIntosh M.K. Intestinal and systemic inflammatory responses are positively associated with sulfidogenic bacteria abundance in high-fat-fed male C57BL/6J mice. *J. Nutr.* 2014
- Shen, X., Du, J., Guan, W., and Zhao, Y. (2014). The balance of intestinal Foxp3+ regulatory T cells and Th17 cells and its biological significance. *Exp. Rev. Clin. Immunol.* 10, 353–362. doi: 10.1586/1744666X.2014.882232
- Shoemaker, N. B., Vlamakis, H., Hayes, K., and Salyers, A. A. (2001). Evidence for extensive resistance gene transfer among *Bacteroides* spp. and among *Bacteroides* and other genera in the human colon. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 561–568. doi: 10.1128/AEM.67.2.561-568.2001
- Sidney Katz, M.D., Laurence G. Branch, Ph.D., Michael H. Branson, Ph.D., Joseph A. Papsidero, Ph.D., John C. Beck, M.D., and David S. Greer, M.D (1983). Active Life Expectancy. *N Engl J Med* 1983; 309:1218-1224.DOI: 10.1056/NEJM198311173092005
- Simpson H.L., Campbell B.J. (2015). Review article: dietary fibre–microbiota interactions. *Alimentary pharmacology and therapeutics.* <https://doi.org/10.1111/apt.13248>
- Sommer, M. O., Dantas, G., and Church, G. M. (2009). Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora. *Science* 325, 1128–1131. doi: 10.1126/science.1176950
- Sonnenburg ED, Sonnenburg JL. Starving our microbial self: the deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates. *Cell Metab.* 2014;20:779–86. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413114003118>.

Stamler J, Daviglius ML, Garside DB, Dyer AR, Greenland P, Neaton JD. Relationship of baseline serum cholesterol levels in 3 large cohorts of younger men to long-term coronary, cardiovascular, and all-cause mortality and to longevity. *JAMA*. 2000;284:311–8.

Sudo, N., Yu, X. N., Aiba, Y., Oyama, N., Sonoda, J., Koga, Y., et al. (2002). An oral introduction of intestinal bacteria prevents the development of a long-term Th2-skewed immunological memory induced by neonatal antibiotic treatment in mice. *Clin. Exp. Allergy* 32, 1112–1116. doi: 10.1046/j.1365-2222.2002.01430.x.

Suez J, Korem T, Zeevi D, Zilberman-Schapira G, Thaiss CA, Maza O, et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*. 2014;514:181–6.

Suresh B. N. Krishna, Anamika Dubey, Muneer A. Malla, Richa Kothari, Chandrama P. Upadhyay, Jamila K. Adam, Ashwani Kumar, Integrating Microbiome Network: Establishing Linkages Between Plants, Microbes and Human Health, 2019

Tanaka, S., Kobayashi, T., Songjinda, P., Tateyama, A., Tsubouchi, M., Kiyohara, C., et al. (2009). Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 56, 80–87. doi: 10.1111/j.1574-695X.2009.00553.x

Tazzini, D. (2015). Gut microbiota: definition, composition and the impact of diet. *Tuscany Diet*. Retrieved 3 June 2017, from <http://www.tuscany-diet.net/2015/12/31/gut-microbiota-definition-composition/#top>

Thielecke, F., Lecerf, J., & Nugent, A. (2020). Processing in the food chain: Do cereals have to be processed to add value to the human diet? *Nutrition Research Reviews*, 1-15. doi:10.1017/S0954422420000207

Ticinesi Andrea, Christian Milani, Fulvio Lauretani, Antonio Nouvenne, Claudio Tana, Marco Ventura, Tiziana Meschi., Gut Microbiome in the Elderly Hospitalized Patient: A Marker of Disease and Prognosis, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815249-2.00030-0>

Tilg H, Moschen AR. Food, immunity, and the microbiome. *Gastroenterology*. 2015;148:1107–19.

Tolhurst, G., Heffron, H., Lam, Y. S., Parker, H. E., Habib, A. M., Diakogiannaki, E., et al. (2012). Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes* 61, 364–371. doi: 10.2337/db11-1019

Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, Sichelstiel AK, Sprenger N, Ngom-Bru C, et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med.* 2014;20:159–66.

Turnbaugh Peter J, Jeffrey I. Gordon. The core gut microbiome, energy balance and obesity, 2009. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.174136>

Ubeda, C., and Pamer, E. G. (2012). Antibiotics, microbiota, and immune defense. *Trends Immunol.* 33, 459–466. doi: 10.1016/j.it.2012.05.003

Ubeda, C., Taur, Y., Jenq, R. R., Equinda, M. J., Son, T., Samstein, M., et al. (2010). Vancomycin-resistant *Enterococcus* domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans. *J. Clin. Invest.* 120, 4332–4341. doi: 10.1172/JCI43918

Urwin HJ, Miles EA, Noakes PS, Kremmyda LS, Vlachava M, Diaper ND, et al. Effect of salmon consumption during pregnancy on maternal and infant faecal microbiota, secretory IgA and calprotectin. *Br J Nutr.* 2014;111:773–84.

Vaughn A.C., Cooper E.M., DiLorenzo P.M., O’Loughlin L.J., Konkel M.E., Peters J.H., Hajnal A., Sen T., Lee S.H., de la Serre C.B., et al. Energy-dense diet triggers changes in gut microbiota, reorganisation of gut-brain vagal communication and increased body fat accumulation. *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)* 2017

Vermeire S, Joossens M, Verbeke K, Wang J, Machiels K, Sabino J, et al. Donor species richness determines faecal microbiota transplantation success in inflammatory bowel disease. *J Crohn's Colitis.* 2016

Voigt RM, Forsyth CB, Green SJ, Mutlu E, Engen P, Vitaterna MH, et al. Circadian disorganization alters intestinal microbiota. *PLoS ONE.* 2014;9:e97500.

Vrieze, A., Out, C., Fuentes, S., Jonker, L., Reuling, I., Kootte, R. S., et al. (2014). Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity. *J. Hepatol.* 60, 824–831. doi: 10.1016/j.jhep.2013.11.034

Wafa Nouari, Lamia Ysmail-Dahlouk, Mourad Aribi, Vitamin D3 enhances bactericidal activity of macrophage against *Pseudomonas aeruginosa*, *International Immunopharmacology*, Volume 30, 2016, Pages 94-101, ISSN 1567-5769, <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.11.033>.

Wang, YH., Yao, N., Wei, KK. et al. The efficacy and safety of probiotics for prevention of chemoradiotherapy-induced diarrhea in people with abdominal and pelvic cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr* 70, 1246–1253 (2016). <https://doi.org/10.1038/ejcn.2016.102>

West NP, Christophersen CT, Pyne DB, Cripps AW, Conlon MA, Topping DL, et al. Butyrylated starch increases colonic butyrate concentration but has limited effects on immunity in healthy physically active individuals. *Exerc Immunol Rev.* 2013;19:102–19.

Wlodarska, M., Willing, B., Keeney, K.M., Menendez, A., Bergstrom, K.S., Gill, N., et al. (2011). Antibiotic treatment alters the colonic mucus layer and predisposes the host to exacerbated *Citrobacter rodentium*-induced colitis. *Infect. Immun.* 79, 1536–1545. doi:10.1128/IAI.01104-10

Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334:105–8.

Wu GD, Compher C, Chen EZ, Smith SA, Shah RD, Bittinger K, et al. Comparative metabolomics in vegans and omnivores reveal constraints on diet-dependent gut microbiota metabolite production. *Gut*. 2014.

Zachary M. Earley, Suhail Akhtar, Stefan J. Green, Ankur Naqib, Omair Khan, Abigail R. Cannon, Adam M. Hammer, Niya L. Morris, Xiaoling Li, Joshua M. Eberhardt, Richard L Gamelli, Richard H. Kennedy, Mashkoor A. Choudhry, Burn Injury Alters the Intestinal Microbiome and Increases Gut Permeability and Bacterial Translocation, *PLoS One*. 2015; 10(7): e0129996. Published online 2015 Jul 8. doi: 10.1371/journal.pone.0129996 PMID: PMC4496078

Zimmer J, Lange B, Frick J-S, Sauer H, Zimmermann K, Schwartz A, et al. A vegan or vegetarian diet substantially alters the human colonic faecal microbiota. *Eur J Clin Nutr*. 2012;66:53–60.

Μεντής ΑΦΑ, Γύπας Φ και Μεντής ΑΦ. (2013). Ανθρώπινο μικροβίωμα του εντέρου: Ο ρόλος του στην υγεία και στη νόσο. *Αρχαία Ελληνικής Ιατρικής* 30 (3):272-288.