

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**



**Α΄ ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗ ΝΟΣΟΛΟΓΙΑ
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΛΑΪΚΟ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Π.Π. ΣΦΗΚΑΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΟΥΣ ΔΙΑΒΗΤΗ
ΤΥΠΟΥ 2**

**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Δ. ΣΤΑΜΟΠΟΥΛΟΣ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΤΕΝΤΟΛΟΥΡΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ, 2020

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**



**Α΄ ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΗ ΝΟΣΟΛΟΓΙΑ
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΛΑΪΚΟ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Π.Π. ΣΦΗΚΑΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΟΥΣ ΔΙΑΒΗΤΗ
ΤΥΠΟΥ 2**

**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Δ. ΣΤΑΜΟΠΟΥΛΟΣ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΤΕΝΤΟΛΟΥΡΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ, 2020

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

1. ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΤΕΝΤΟΛΟΥΡΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ
ΕΚΠΑ

2. ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΜΑΚΡΥΛΛΑΚΗΣ, ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗΣ ΕΚΠΑ

3. ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΚΟΚΚΙΝΟΣ, ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗΣ ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ: 28/5/2020

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας το πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών με τίτλο «Σακχαρώδης Διαβήτης και Παχυσαρκία» της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον υπεύθυνο Καθηγητή και επιβλέποντα της εργασίας μου, κ. Νικόλαο Τεντολούρη, για την άρτια ενορχήστρωση και ολοκλήρωση του προγράμματος αυτού. Θα ήθελα επιπλέον να ευχαριστήσω όλους τους διδάσκοντες για τις σημαντικές διαλέξεις, τις ενδιαφέρουσες συζητήσεις και το ενδιαφέρον που ενέπνευσαν για περαιτέρω έρευνα καθώς και όλο το ανθρώπινο δυναμικό του προγράμματος για την άψογη οργάνωση.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου για την υποστήριξη καθ' όλη την διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών και της εκπόνησης της παρούσας εργασίας.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
SUMMARY.....	8
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	9
1. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ.....	9
1.1. Επιδημιολογία.....	9
1.2. Ταξινόμηση.....	10
1.3. Αιτιοπαθογένεια.....	11
2. ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ.....	14
2.1. Ορισμός.....	14
2.2. Σύθεση.....	14
2.3. Κύριες λειτουργίες.....	17
2.4. Τροποποιητικοί παράγοντες.....	28
2.5. Προβιοτικά, πρεβιοτικά και συνβιοτικά.....	35
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	37
1. ΣΚΟΠΟΣ.....	37
2. ΜΕΘΟΔΟΙ.....	38
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	39
3.1. Ευβίωση και δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος.....	40
3.2 Βακτήρια του εντερικού μικροβιώματος που εμπλέκονται στην ανάπτυξη ΣΔ2..	42
3.3. Σημαντικά μεταβολικά προϊόντα του εντερικού μικροβιώματος.....	46
3.4. Πιθανοί μηχανισμοί των επιδράσεων του μικροβιώματος στο μεταβολισμό ασθενών με ΣΔ2.....	54
3.5. Συμβολή του μικροβιώματος στην επιτυχία της φαρμακευτικής θεραπείας σε	

ασθενείς με ΣΔ2.....	66
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	69
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	73

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ2) είναι μια μεταβολική νόσος που πλήττει περισσότερο από το 9% του πληθυσμού παγκοσμίως και συνδέεται στενά με την παχυσαρκία. Το ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα βρέθηκε πρόσφατα στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος όσον αφορά τη συσχέτισή του με την παθογένεια μεταβολικών νοσημάτων, όπως η παχυσαρκία και ο ΣΔ2, που φαίνεται να συνδέονται με τη δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος και τη φλεγμονή. Το εντερικό μικροβίωμα αποτελεί ένα δυναμικό σύστημα το οποίο αλληλεπιδρώντας με γενετικούς, διαιτητικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες συμμετέχει στην ομοίωση του οργανισμού μέσω διαφόρων οδών που περιλαμβάνουν την ακεραιότητα του εντερικού φραγμού, την παραγωγή μεταβολιτών που επηρεάζουν την αντίσταση στην ινσουλίνη, το μεταβολισμό των χολικών οξέων και τη συμμετοχή του στη σηματοδότηση μοριακών μονοπατιών. Η δυσβίωση της εντερικής μικροχλωρίδας μπορεί να οδηγήσει σε κατάσταση μεταβολικής απορρύθμισης, η οποία περιλαμβάνει την αυξημένη αντοχή στην ινσουλίνη και την παρουσία φλεγμονής, δύο βασικών δηλαδή παραγόντων για την ανάπτυξη του ΣΔ2. Στην παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση, παραθέτουμε μια εκτενή περιγραφή της σύνθεσης του ανθρώπινου εντερικού μικροβιώματος καθώς και των παραγόντων που το επηρεάζουν. Παράλληλα παρουσιάζουμε τις μεταβολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της εντερικής μικροχλωρίδας, και της παθογένειας και εξέλιξης του ΣΔ2.

SUMMARY

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a metabolic disease that affects over 9% of the population globally and is closely linked to obesity. The human gut microbiome has recently been the focus in terms of influencing the pathogenesis of metabolic diseases, such as obesity and T2DM, through dysbiosis and inflammation. The gut microbiome consists a dynamic system that interacts with genetic, dietary, and environmental factors and affects host metabolism, through several pathways including gut barrier integrity, production of metabolites affecting insulin resistance, metabolism of bile acids and subsequent changes in metabolic signaling. Dysbiosis can lead to metabolic deregulation, including increased insulin resistance and inflammation, two key factors in the development of T2DM. In this review, we provide an extensive description of the composition of the human gut microbiome as well as the factors that influence it. Additionally, we present the metabolic interactions between the intestinal microflora, and the pathogenicity and evolution of T2DM.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ

1.1. Επιδημιολογία

Ο σακχαρώδης διαβήτης είναι μία μεταβολική διαταραχή που αποτελεί ένα από τα συχνότερα χρόνια νοσήματα και μία από τις σημαντικότερες αιτίες πρόωρης θνησιμότητας παγκοσμίως. Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ2), γνωστός και ως μη ινσουλινοεξαρτώμενος ΣΔ, αποτελεί τη συνηθέστερη μορφή της νόσου, και χαρακτηρίζεται από υπεργλυκαιμία, αντίσταση στην ινσουλίνη και σχετική ανεπάρκεια ινσουλίνης [1]. Ο ΣΔ2 προκύπτει από την αλληλεπίδραση γενετικών, περιβαλλοντικών και συμπεριφορικών παραγόντων [1].

Εκτιμάται ότι μέχρι το 2030 το σύνολο των ατόμων που νοσούν από ΣΔ θα ανέλθει σε 552 εκατομμύρια, με 439 εκατομμύρια εξ αυτών να έχουν αναπτύξει ΣΔ2 [2]. Η συχνότητα εμφάνισης ΣΔ2 ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των γεωγραφικών περιοχών ως αποτέλεσμα διαφορετικών παραγόντων κινδύνου τόσο περιβαλλοντικών όσο και τρόπου ζωής.

Σύμφωνα με τη Διεθνή Ομοσπονδία για το Διαβήτη (International Diabetes Federation, IDF) ο επιπολασμός του ΣΔ2 στην Ελλάδα για το 2019 εκτιμάται στο 6,13% και είναι πολύ υψηλότερος στα άτομα άνω των 65 ετών. Επιπροσθέτως, η πενταετής επίπτωση της νόσου αγγίζει το 5.5%, σύμφωνα με δεδομένα από τη μελέτη ATTICA, καταδεικνύοντας την αύξηση του φορτίου της νόσου στον ελλαδικό χώρο.

1.2 Ταξινόμηση

Ο σακχαρώδης διαβήτης ταξινομείται στις εξής κατηγορίες:

- Διαβήτης τύπου 1 : παλαιότερα αποκαλούμενος ινσουλινοεξαρτώμενος ή νεανικός διαβήτης, χαρακτηρίζεται από απόλυτη έλλειψη ινσουλίνης λόγω αυτοάνοσης καταστροφής των β-κυττάρων του παγκρέατος.
- Διαβήτης τύπου 2 : ετερογενής διαταραχή που χαρακτηρίζεται από αντίσταση των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης και προοδευτική ελάττωση έκκρισης ινσουλίνης λόγω δυσλειτουργίας των β κυττάρων του παγκρέατος
- Σακχαρώδης διαβήτης κύησης : χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση διαβήτη κατά τη διάρκεια της κύησης με την προϋπόθεση ότι δεν υπήρχε ιστορικό της νόσου κατά την έναρξη της εγκυμοσύνης
- Διαβήτης τύπου MODY και άλλες μονογονιδιακές διαταραχές
- Άλλοι τύποι διαβήτη : διαβήτης που συνοδεύει παθήσεις του παγκρέατος όπως κυστική ίνωση ή παγκρεατίτιδα, ενδοκρινοπάθειες (σύνδρομο Cushing, μεγαλακρία, φαιοχρωμοκύτωμα, γλυκαγόνωμα, σωματοστατίνωμα), γενετικά σύνδρομα, λοιμώξεις ή χρήση φαρμάκων όπως γλυκοκορτικοειδή.

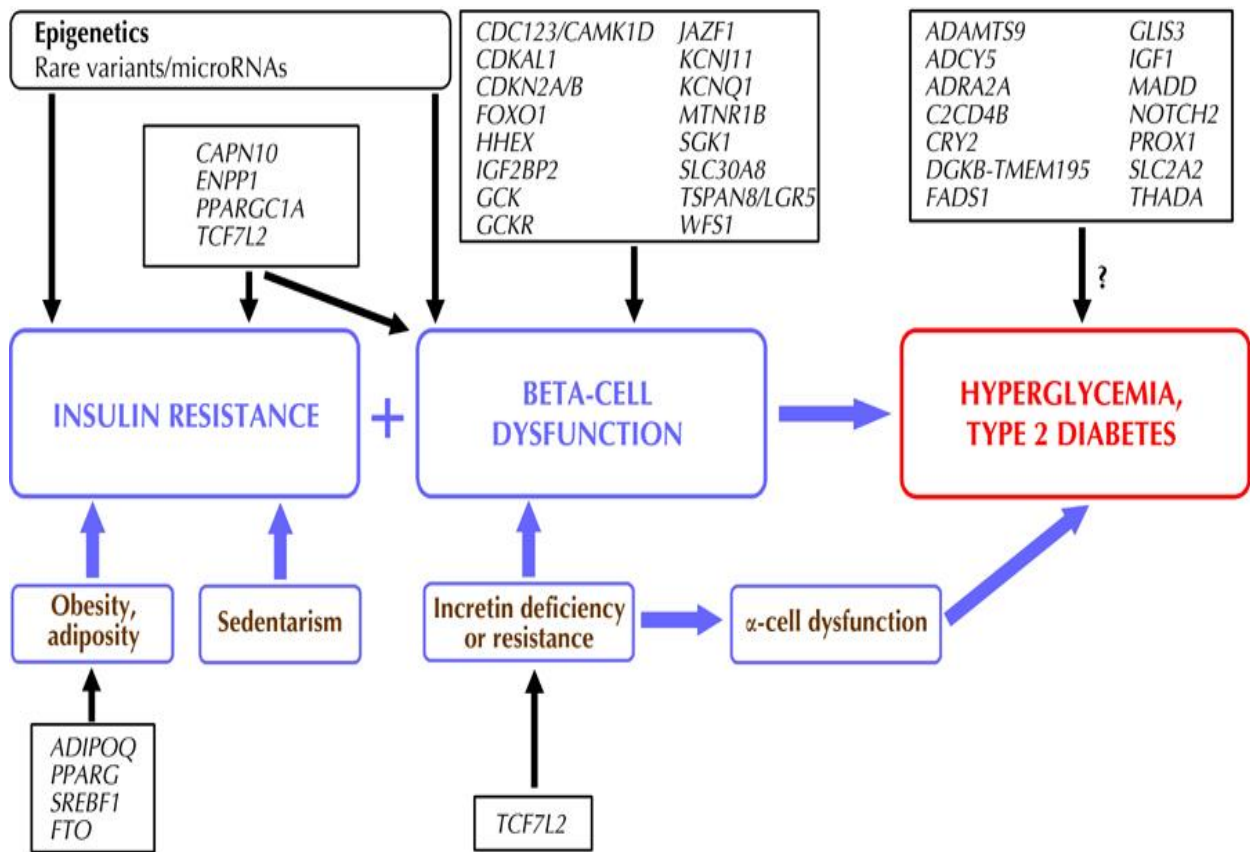
1.3 Αιτιοπαθογένεια

Ο ΣΔ2 είναι μία πολύπλοκη μεταβολική νόσος που χαρακτηρίζεται κυρίως από δυσλειτουργία των β-κυττάρων των νησιδίων του Langerhans και αντίσταση των περιφερικών ιστών στην ινσουλίνη [3]. Επιπροσθέτως, πρόσφατα αναγνωρίστηκαν και επιπλέον μηχανισμοί που συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία της νόσου όπως η έκπτωση της λειτουργίας των α-κυττάρων του παγκρέατος, η διαταραχή στη δράση της ινσουλίνης στο λιπώδη ιστό, η διαταραχή στην έκκριση και δράση των ινκρετινών, η αυξημένη έκκριση γλυκαγόνης, η αυξημένη επαναρρόφηση γλυκόζης από τους νεφρούς όπως και διαταραχές στο κεντρικό νευρικό σύστημα [4].

Ο ΣΔ2 οφείλεται κυρίως σε συμπεριφορικούς και γενετικούς παράγοντες [5]. Ο καθιστικός τρόπος ζωής, το κάπνισμα τσιγάρων καθώς και η συστηματική κατανάλωση αλκοόλ, σχετίζονται άμεσα με την ανάπτυξη της νόσου [6], ενώ η παχυσαρκία έχει διαπιστωθεί ότι συνυπάρχει σε περίπου 55% των περιπτώσεων ΣΔ2 [7]. Μάλιστα, η αυξημένη παιδική παχυσαρκία μεταξύ της δεκαετίας του 1960 και της δεκαετίας του 2000 πιστεύεται ότι οδήγησε στην αύξηση του ΣΔ2 στα παιδιά και τους εφήβους [8]. Οι περιβαλλοντικές τοξίνες φαίνεται να συμβάλουν στην αύξηση της επίπτωσης της νόσου καθώς έχει διαπιστωθεί ασθενής θετικός συσχετισμός μεταξύ της συγκέντρωσης στα ούρα της δισφαινόλης A, συστατικού ορισμένων πλαστικών, και της επίπτωσης του ΣΔ2 [9].

Υπάρχει μια ισχυρή κληρονομική προδιάθεση στο ΣΔ2, καθώς έχοντας συγγενείς (ιδιαίτερα πρώτου βαθμού) με ΣΔ2, αυξάνεται σημαντικά ο κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου. Η σύγκριση μεταξύ μονοζυγωτικών διδύμων αγγίζει το 100% ενώ περίπου το 25% των ασθενών με τη νόσο έχουν οικογενειακό ιστορικό της νόσου [10]. Τα γονίδια

που φαίνεται να σχετίζονται σημαντικά με την ανάπτυξη ΣΔ2 περιλαμβάνουν τα TCF7L2, PPARG, FTO, KCNJ11, NOTCH2, WFS1, CDKAL1, IGF2BP2, SLC30A8, JAZF1 και HHEX [11]. Τα άτομα που φέρουν γενετικούς πολυμορφισμούς στα γονίδια HNF-1α, HNF-4α, TCF7L2, Kir6.2, που σχετίζονται με δυσλειτουργία των β κυττάρων του παγκρέατος, αναπτύσσουν ΣΔ2 όταν βρεθούν σε στρεσογόνες συνθήκες. Επιπλέον, η παχυσαρκία (που είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για τον ΣΔ2) έχει κληρονομική προδιάθεση [12]. Επιπροσθέτως, υπάρχουν πολλές νοσολογικές οντότητες που μπορούν να προκαλέσουν ή να επιδεινώσουν το ΣΔ2. Αυτές περιλαμβάνουν την υπέρταση, την αυξημένη χοληστερόλη (συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία) καθώς και το μεταβολικό σύνδρομο (επίσης γνωστό ως σύνδρομο X, σύνδρομο Reaven) [13]. Άλλοι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν την ακρομεγαλία, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, το σύνδρομο Cushing, τη θυρεοτοξίκωση, το φαιοχρωμοκύτωμα, την χρόνια παγκρεατίτιδα και τις νεοπλασματικές νόσους [14]. Πρόσθετοι παράγοντες που φαίνεται ότι αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης ΣΔ2 είναι το γήρας, οι δίαιτες υψηλής περιεκτικότητας σε κορεσμένα λιπαρά και ένας λιγότερο ενεργός τρόπος ζωής.



Εικόνα 1. Παθοφυσιολογία του ΣΔ2 [15]

2. ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ

2.1. Ορισμός

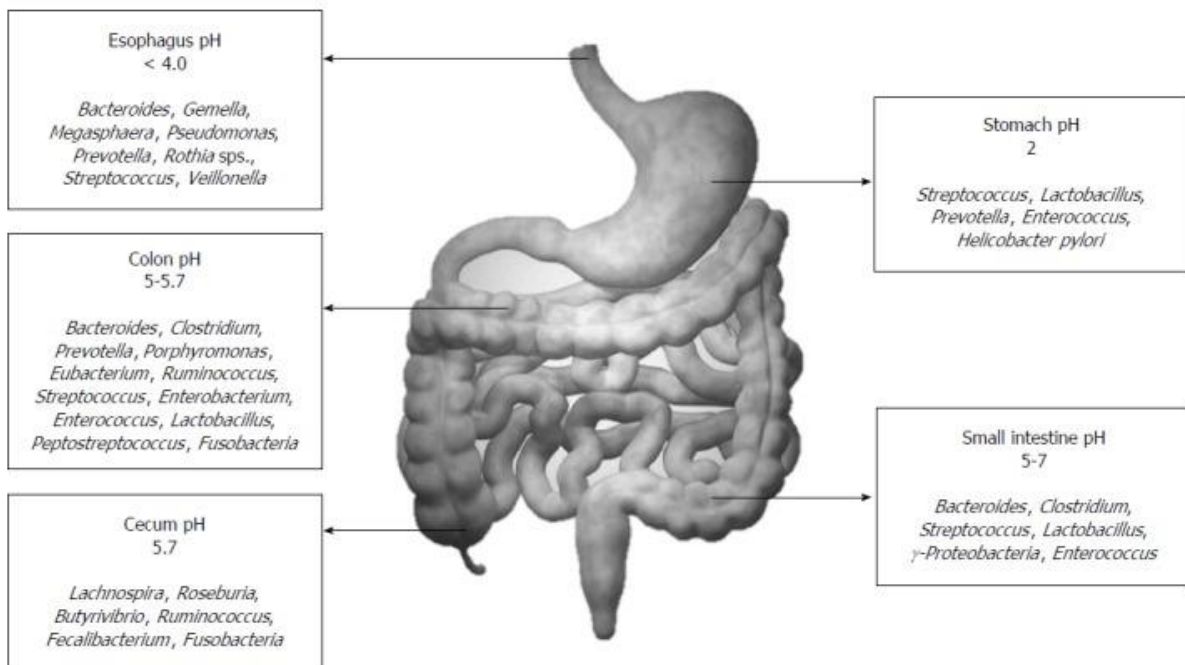
Το μικροβίωμα αναφέρεται σε ολόκληρο τον πληθυσμό μικροοργανισμών που αποικίζουν μια συγκεκριμένη τοποθεσία και περιλαμβάνει όχι μόνο βακτηρίδια, αλλά και άλλα μικρόβια όπως μύκητες, ιούς και πρωτόζωα [16]. Το εντερικό μικροβίωμα έχει βρεθεί στο κέντρο του ενδιαφέροντος της επιστημονικής κοινότητας τα τελευταία χρόνια καθώς έχει συσχετιστεί με μια μεγάλη ποικιλία νοσολογικών οντοτήτων όπως οι ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου και το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, μεταβολικές ασθένειες όπως η παχυσαρκία και ο διαβήτης, αλλεργικές νόσοι και νευροαναπτυξιακές διαταραχές [17].

2.2. Σύθεση

Όπως έχει εκτιμηθεί από μια πρόσφατη μελέτη, η μικροχλωρίδα του ανθρώπινου εντέρου αποτελείται από περισσότερα από 35.000 βακτηριακά είδη [18]. Συνολικά, το μικροβίωμα του υγιούς παχέος έντερου αποτελείται κατά κύριο λόγο από τα μικρόβια του γένους Firmicutes και Bacteroidetes, ενώ ακολουθούν αριθμητικά τα Actinobacteria και Verrucomicrobia. Κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα παρατηρούνται αξιοσημείωτες διαφορές τόσο στον αριθμό όσο και στο γένος των απαντώμενων βακτηρίων, που κυμαίνονται από 10¹ ανά γραμμάριο περιεχομένου στον οισοφάγο και στο στομάχι έως 10¹² ανά γραμμάριο περιεχομένου στο κόλον [19]. Στην [εικόνα 2](#) απεικονίζει την κατανομή των βακτηρίων κατά μήκος του γαστρεντερικού

σωλήνα. Η στοματική κοιλότητα αποικίζεται από υψηλό αριθμό βακτηρίων (10^{12}). Ο στόμαχος φέρει περίπου 10^3 – 10^4 βακτήρια, το δωδεκαδάκτυλο 10^5 – 10^6 και ο τελικός ειλεός 10^8 – 10^9 βακτήρια ανά γραμμάριο ιστού ή κοπράνων. Ο μεγαλύτερος αριθμός των βακτηρίων εντοπίζεται στο παχύ έντερο (10^{12} βακτήρια ανά γραμμάριο εντερικού ιστού). Ο στρεπτόκοκκος φαίνεται να είναι το κυρίαρχο γένος στο κατώτερο τμήμα του οισοφάγου, το δωδεκαδάκτυλο και τη νήστιδα [20,21]. Το *Helicobacter* είναι το κυρίαρχο γένος που υπάρχει στο στομάχι και καθορίζει το μικροβιακό τοπίο της γαστρικής χλωρίδας μαζί με τα *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella* και *Rothia* [22]. Το παχύ έντερο φιλοξενεί πάνω από το 70% όλων των μικροβίων που αποικίζουν το ανθρώπινο σώμα. Συμπερασματικά όταν γενικά αναφέρεται ο όρος «μικροβίωμα εντέρου» πρακτικά εννοείται το μικροβίωμα του παχέος εντέρου. Τα βακτηριακά φύλα που κυριαρχούν στο παχύ έντερο περιλαμβάνουν τα Firmicutes και Bacteroidetes. Παραδοσιακά, η αναλογία Firmicutes/Bacteroidetes έχει συσχετισθεί με προδιάθεση για συγκεκριμένες ασθένειες [23]. Ωστόσο, η σημαντική μεταβλητότητα, ακόμη και σε υγιή άτομα, που παρατηρήθηκε σε πρόσφατες μελέτες, καθιστά αμφισβητήσιμη τη σημασία αυτής της αναλογίας. Εκτός από τα φύλα Firmicutes και Bacteroides, το κόλον είναι αποικισμένοι επίσης από παθογόνα βακτήρια, όπως *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholera*, *Escherichia coli* (E. Coli) και *Bacteroides fragilis*, αλλά σε χαμηλή αναλογία (0,1% ή λιγότερο του συνόλου του μικροβιώματος του εντέρου) [24]. Επιπροσθέτως, τα μικροβιακά είδη που σχετίζονται με τη βλεννογόνια εντερική στιβάδα διαφέρουν από εκείνα που βρίσκονται στον εντερικό αυλό. Παρόλο που τα γένη *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* και *Ruminococcus* είναι τα κυρίαρχα μικροβιακά γένη (μπορούν να ταυτοποιηθούν και στα κόπρανα), μόνο τα *Clostridium*,

Lactobacillus, Enterococcus και Akkermansia είναι αυτά που κυρίως εντοπίζονται στον εντερικό βλεννογόνο και στην παραγόμενη βλέννη [25].



Εικόνα 2. Κατανομή των βακτηριακών ειδών κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα [17]

Ο άλλος τρόπος ταξινόμησης της χλωρίδας του εντέρου, όπως προτείνεται από το MetaHIT Consortium, βασίζεται στην επικράτηση συγκεκριμένων ειδών κατηγοριοποιώντας την σε 3 διαφορετικές ομάδες ή εντεροτύπους [26]. Υπάρχουν γενικά τρεις εντεροτύποι: Εντεροτύπος 1, ο οποίος έχει μεγάλη αφθονία του γένους *Bacteroides*. Εντεροτύπος 2, ο οποίος έχει μεγάλη αφθονία του γένους *Prevotella*. και Εντεροτύπος 3 που έχει μεγάλη αφθονία του γένους *Ruminococcus*. Τα βακτηρίδια που ανήκουν στον εντεροτύπο 1 έχουν σακχαρολυτικό δυναμικό, όπως αποδεικνύεται από την παρουσία ενζύμων όπως πρωτεάσες, εξωαμινιδάσες και γαλακτοσιδάσες. Τα γένη του εντεροτύπου 2 διασπούν κυρίως τις γλυκοπρωτεΐνες της βλέννης που καλύπτει τον εντερικό βλεννογόνο. Ο εντεροτύπος 3 εκτός από τη μεμβρανική μεταφορά σακχάρων, επίσης συσχετίζεται με αποικοδόμηση της βλέννης. Οι

εντεροτύποι χαρακτηρίζονται και από άλλες ειδικές μεταβολικές λειτουργίες. Για παράδειγμα, η βιοτίνη, η ριβοφλαβίνη, η σύνθεση παντοθενικού και ασκορβικού οξέος παρατηρούνται περισσότερο στον εντερότυπο 1, ενώ η σύνθεση της θειαμίνης και του φυλλικού οξέος υπερισχύει στο εντερότυπο 2. Ωστόσο, η θεωρία των εντεροτύπων δεν εξηγεί την ανομοιόμορφη κατανομή του μικροβιώματος σε διαφορετικά άτομα και θεωρείται από πολλούς υπεραπλουστευμένη [17].

2.3. Κύριες λειτουργίες

Το μικροβίωμα του εντέρου συνυπάρχει σε ισορροπία με τον εντερικό βλεννογόνο, συμμετέχοντας σε σημαντικές μεταβολικές, ανοσολογικές και προστατευτικές για το έντερο λειτουργίες, στο υγιές άτομο. Το εντερικό μικροβίωμα, το οποίο αντλεί τα θρεπτικά συστατικά του από τα διαιτητικά συστατικά του ξενιστή, είναι από μόνο του ένα ξεχωριστό όργανο με ιδιαίτερη μεταβολική ικανότητα και λειτουργική πλαστικότητα [27]. Οι κύριες λειτουργίες του φυσιολογικού εντερικού μικροβιώματος περιλαμβάνουν τις ακόλουθες:

- **Μεταβολισμός των θρεπτικών ουσιών**

Το μικροβίωμα του εντέρου αποκομίζει σε μεγάλο βαθμό τα θρεπτικά συστατικά του από τους διατροφικούς υδατάνθρακες. Οι υδατάνθρακες που διαφεύγουν της εγγύς πέψης και οι δύσπεπτοι ολιγοσακχαρίτες, υφίστανται ζύμωση από μικροοργανισμούς, όπως τα *Bacteroides*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Fecalibacterium* και *Enterobacteria*, με αποτέλεσμα τη σύνθεση λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (SCFAs) όπως βουτυρικό, προπιονικό και οξικό, που αποτελούν σημαντικές πηγές ενέργειας για τον

ξενιστή [28,29]. Αυτό το ισοζύγιο ενέργειας πιστεύεται ότι εξασφαλίζεται από την αλληλεπίδραση συνδέτη-υποδοχέα των SCFAs με έναν υποδοχέα συζευγμένο με G πρωτεΐνη, τον Gpr41. Μια άλλη εντεροενδοκρινής ορμόνη, η PYY (Peptide Tyrosine Tyrosine/Pancreatic Peptide YY3-36) φαίνεται ότι επίσης εμπλέκεται σε αυτήν την δράση [30]. Επιπλέον, το βουτυρικό οξύ μπορεί να αποτρέψει τη συσσώρευση τοξικών μεταβολικών παραπροϊόντων όπως το D-γαλακτικό οξύ [17]. Τα μέλη του γένους *Bacteroides* είναι οι κυριότεροι μικροοργανισμοί που συμμετέχουν στον μεταβολισμό των υδατανθράκων, μέσω της παραγωγής ενζύμων όπως οι γλυκοσυλικές τρανσφεράσες, οι υδρολάσες γλυκοσιδίων και οι λυάσες πολυσακχαριτών. Το καλύτερο παράδειγμα μεταξύ αυτών των μικροοργανισμών είναι το *Bacteroides thetaiotaomicron*, το γονιδίωμα του οποίου κωδικοποιεί πάνω από 260 υδρολάσες, αριθμό μεγαλύτερο από αυτόν που κωδικοποιείται από όλο το ανθρώπινο γονιδίωμα [31]. Το οξαλικό οξύ που συντίθεται στο έντερο ως αποτέλεσμα της ζύμωσης των υδατανθράκων και του μεταβολισμού των βακτηρίων, καταπολεμάται από μικροοργανισμούς όπως το *Oxalobacter formigenes*, το είδος *Lactobacillus* και το είδος *Bifidobacterium*, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο σχηματισμού λίθων οξαλικού οξέως στα νεφρά [32].

Το εντερικό μικροβίωμα συμμετέχει και στο μεταβολισμό των λιπιδίων, καταστέλλοντας την αναστολή της δραστηριότητας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης στα λιποκύτταρα. Επιπλέον, το *Bacteroides thetaiotaomicron* αυξάνει την αποτελεσματικότητα της υδρόλυσης των λιπιδίων μέσω αύξησης της έκφρασης μιας συλιπάσης, η οποία μαζί με την παγκρεατική λιπάση απαιτούνται για την πέψη των λιπιδίων [33].

Το εντερικό μικροβίωμα φαίνεται να έχει καταλυτικό ρόλο και στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών, ο οποίος διαδραματίζεται μέσω των μικροβιακών πρωτεϊνών και πεπτιδίων σε συνδυασμό με τις ανθρώπινες πρωτεϊνάσες. Αρκετοί

δίαυλοι/μεταφορείς του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος διευκολύνουν την είσοδο αμινοξέων από τον εντερικό σωλήνα στο βακτήριο, όπου τα τελευταία μετατρέπονται σε σηματοδοτικά μόρια και αντιμικροβιακά πεπτίδια (βακτηριοκίνες). Σημαντικά παραδείγματα αποτελούν η μετατροπή της L-ιστιδίνης σε ισταμίνη από το βακτηριακό ένζυμο αποκαρβοξυλάση της ισταμίνης, το οποίο κωδικοποιείται από τα βακτηριακό γονίδιο *hdcA* [34], και η μετατροπή του γλουταμινικού οξέος σε γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) από τις γλουταμινικές αποκαρβοξυλάσες, οι οποίες κωδικοποιούνται από το βακτηριακό γονίδιο *gadB* [35].

Η σύνθεση της βιταμίνης K και διαφόρων συστατικών της βιταμίνης B είναι μια επιπλέον σημαντική μεταβολική λειτουργία του μικροβιώματος του εντέρου. Τα μέλη του γένους *Bacteroides* έχει αποδειχθεί ότι συνθέτουν συζευγμένο λινολεϊκό οξύ (CLA) που είναι γνωστό ότι έχει ιδιότητες αντιδιαβητικές, αντιαθηρογόνες, κατά της παχυσαρκίας, υπολιπιδαιμικές και ανοσορυθμιστικές [36,37]. Παράλληλα, το *Bacteroides intestinalis* και σε κάποιο βαθμό το *Bacteroides fragilis* καθώς και το *E. Coli*, έχουν επίσης την ικανότητα να μετατρέπουν τα πρωτογενή χολικά οξέα στα δευτερεύοντα χολικά οξέα, δεσοξυχολικά και λιθοκολικά οξέα στο ανθρώπινο κόλον [38]. Το υγιές εντερικό μικροβίωμα, έχει επίσης αποδειχθεί ότι προσδίδει έναν υγιή μεταβολίτη (metabolome) αυξάνοντας τις συγκεντρώσεις του πυροσταφυλικού οξέος, του κιτρικού 27 οξέος, του φουμαρικού οξέος και του μηλικού οξέος, τα οποία είναι δείκτες υψηλότερου ενεργειακού μεταβολισμού [39].

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα εμπλέκεται επίσης στη διάσπαση διαφόρων πολυφαινολών (φαινολικών ενώσεων), που καταναλώνονται στη διατροφή [17]. Οι πολυφαινολικοί δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως οι φλαβανόλες, φλαβανόνες, ανθοκυανιδίνες, ισοφλαβόνες, φλαβόνες, τανίνες, λιγνάνες, βρίσκονται σε μια ποικιλία φυτών, φρούτων και φυτικών προϊόντων (τσάι,

κακάο, κρασί). Εξ αυτών, τα φλαβονοειδή και οι υποοικογένειες τους, απορροφώνται συνήθως από το έντερο. Οι πολυφαινόλες υπάρχουν ως γλυκοζυλιωμένα παράγωγα συνδεδεμένα με σάκχαρα όπως γλυκόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη, ριβουλόζη, αραβινοπυρινόζη και αραβινοφουρανόζη. Οι πολυφαινόλες, οι οποίες συνήθως παραμένουν αδρανείς στη διατροφή, βιομετατρέπονται σε δραστικές ενώσεις μετά την αφαίρεση του τμήματος σακχάρου από το μικροβίωμα του εντέρου. Τα τελικά δραστικά προϊόντα απορροφώνται από το φλεβικό δίκτυο και μεταφέρονται σε άλλους ιστούς και όργανα, παρέχοντας έτσι αντιμικροβιακή και μεταβολική δράση.

➤ Ξενοβιοτικά και μεταβολισμός φαρμάκων

Η ικανότητα του εντερικού μικροβιώματος να μεταβολίζει τα ξενοβιοτικά και τα φάρμακα αναγνωρίστηκε πριν αρκετά χρόνια ενώ έχει φανεί ότι θα μπορούσε να έχει σημαντικές επιπτώσεις στη θεραπεία διάφορων ασθενειών στο μέλλον. Πρόσφατες μελέτες από τους Clayton *et al* [40], έδειξαν ότι ένας μεταβολίτης του εντερικού μικροβιώματος, η ρ-κρεσόλη, μπορεί να μειώσει την ικανότητα του ήπατος να μεταβολίζει την ακεταμινοφαίνη εξαιτίας της ανταγωνιστικής αναστολής των ηπατικών σουλφοτρανσφερασών. Επιπλέον, οι καρδιακές γλυκοσίδες, όπως η διγοξίνη, έχουν αποδειχθεί ότι ρυθμίζουν ανοδικά ένα κυτόχρωμα στον κοινό οργανισμό *Eggerthella lenta* από το φύλο των Actinobacteria, με αποτέλεσμα την αδρανοποίηση της διγοξίνης [41]. Ένα άλλο ενδιαφέρον παράδειγμα συμμετοχής του εντερικού μικροβιώματος στο μεταβολισμό φαρμάκων, είναι η μικροβιακή β-γλυκουρονιδάση που εμπλέκεται στο μεταβολισμό του φαρμάκου ιρινοτεκάνη, οδηγώντας σε αύξηση της τοξικότητάς του (φλεγμονή, διάρροια, και ανορεξία) [42]

➤ Αντιμικροβιακή προστασία

Η διατήρηση της ομοιόστασης, στο επίπεδο του εντερικού μικροβιώματος, είναι ιδιαίτερα απαιτητική διαδικασία καθώς πρέπει να εξασφαλίσει ότι το ανοσοποιητικό σύστημα θα είναι ανεκτικό στις ωφέλιμες δράσεις των μικροβίων και παράλληλα θα αποτρέψει την υπερανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών. Ένας από τους απλούστερους μηχανισμούς αντιμικροβιακής προστασίας εξασφαλίζεται με την παρουσία βλέννης σε 2 στρώσεις, η οποία προστατεύει τα μικρόβια του αυλού από την επαφή με το επιθήλιο, κυρίως στο παχύ έντερο. Η βλέννη αποτελείται από μια ποικιλία γλυκοπρωτεϊνών βλεννίνης, που εκκρίνονται από τα εντερικά κύτταρα και εκτείνονται μέχρι 150 μm μακριά από το επιθήλιο στο κόλον [43]. Το εσωτερικό στρώμα είναι πυκνότερο και δεν περιέχει κανένα οργανισμό, ενώ το εξωτερικό στρώμα είναι πιο δυναμικό και παρέχει γλυκάνες ως πηγή τροφής για τους οργανισμούς [44]. Εκτός από τις γλυκοπρωτεΐνες βλεννίνης, τα εντερικά κύτταρα παράγουν επίσης παράγοντες που μπορούν να σταθεροποιήσουν τα πολυμερή βλεννίνης, διατηρώντας έτσι την ακεραιότητα του φραγμού [45].

Σε αντίθεση με το παχύ έντερο όπου η βλέννη παίζει σημαντικό ρόλο, οι αντιμικροβιακές πρωτεΐνες παίζουν μεγαλύτερο ρόλο στο λεπτό έντερο αφού εδώ το στρώμα βλέννης είναι ασυνεχές και ανεπαρκές. Το μικροβίωμα του εντέρου, μέσω των δομικών συστατικών του και των μεταβολιτών του, έχει αποδειχθεί ότι επάγει τη σύνθεση αντιμικροβιακών πρωτεϊνών (AMP) όπως καθελησιδίνες, λεκτίνες τύπου C και προντεφενσίνες από τα κύτταρα Paneth του ξενιστή, μέσω μηχανισμού αναγνώρισης με υποδοχείς προτύπων (PRR) [46]. Η οικογένεια PRR περιλαμβάνει τα TLRs που σχετίζονται με τη μεμβράνη, τους υποδοχείς λεκτίνης τύπου C (CLRs) και τους υποδοχείς (NOD) που συνδέονται με νουκλεοτίδια και ολιγομερή (NOD). Οι PRR με τη σειρά τους ενεργοποιούνται από διάφορα μικροβιακά συστατικά όπως

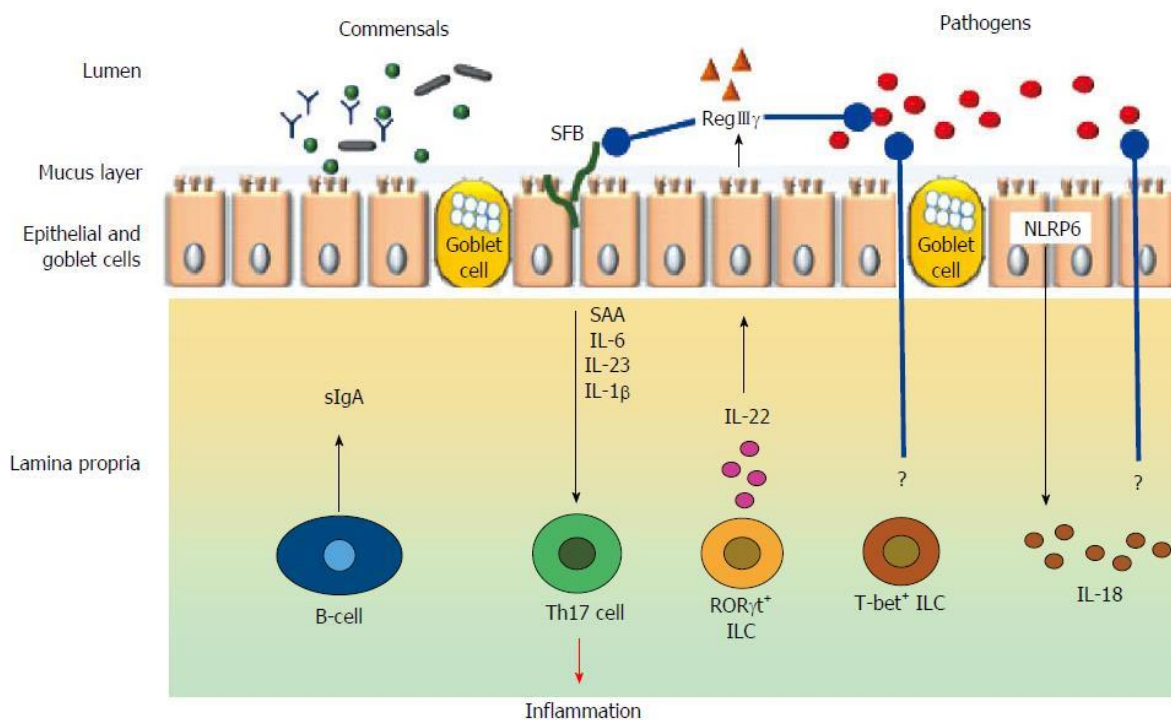
πεπτιδογλυκάνη, LPS, λιπίδιο A, βακτηριακό RNA / DNA, β-γλυκάνες μυκητιακού κυτταρικού τοιχώματος [47]. Η σύνδεση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση διαφόρων οδών σηματοδότησης που είναι απαραίτητες για την παραγωγή των AMP, των γλυκοπρωτεϊνών βλεννίνης και της IgA. Δεδομένου ότι τα κύτταρα Paneth βρίσκονται στη βάση των εντερικών κρυπτών, η συγκέντρωση των AMP είναι μέγιστη σε αυτή τη θέση. Παρόλο που το σύνθετο υγιές μικροβίωμα φαίνεται να είναι απαραίτητο για την παραγωγή AMP, τα *Bacteroides thetaiotaomicron* και *Lactobacillus innes* φαίνεται ότι είναι τα βασικά είδη μικροοργανισμών που οδηγούν σε αυτή την παραγωγή [48]. Ο οργανισμός *Bacteroides thetaiotaomicron* έχει επίσης αποδειχθεί ότι επάγει την έκφραση της μεταλλοπρωτεϊνάσης matrilysin από τα κύτταρα Paneth, η οποία στη συνέχεια διασπά την prodefensin για να σχηματιστεί ενεργή defensin [49]. Ένα άλλο παράδειγμα αλληλεπίδρασης μικροβιώματος-ξενιστή στην παροχή αντιμικροβιακής προστασίας, είναι η ικανότητα του *Lactobacillus* sp. να παράγει γαλακτικό οξύ, το οποίο μπορεί να αυξήσει την αντιμικροβιακή δραστηριότητα της λυσοζύμης του ξενιστή [50]. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι βακτηριακά μεταβολικά προϊόντα, όπως τα SCFA και το λιθοχολικό οξύ, επάγουν την έκφραση της καθελιδίνης με μηχανισμούς που περιλαμβάνουν την αποακετυλίωση ιστονών και την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού των MAP κινασών [51,17].

Ο άλλος αντιμικροβιακός μηχανισμός που έχει αναπτύξει το εντερικό μικροβίωμα είναι ο έλεγχος της υπερανάπτυξης των παθογόνων στελεχών μέσω παραγωγής τοπικών ανοσοσφαιρινών. Το εντερικό μικροβίωμα, και ιδιαίτερα οι Gram-αρνητικοί μικροοργανισμοί όπως οι *Bacteroides*, φαίνεται να ενεργοποιούν τα εντερικά δενδριτικά κύτταρα (DCs), τα οποία ενεργοποιούν τα πλασματοκύτταρα προς παραγωγή εκκριτικής ανοσοσφαιρίνης A (sIgA) [52]. Η sIgA, και κυρίως η υποκατηγορία sIgA2, προστατεύει το εντερικό μικροβίωμα όντας πιο ανθεκτική στην

αποικοδόμηση από τις βακτηριακές πρωτεάσες. Επιπλέον, τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα συμμετέχουν σε ένα μηχανισμό ανίχνευσης βακτηρίων, που μεσολαβείται από TLR, και μπορεί να προκαλέσει αλλαγή τάξης της ανοσοσφαιρίνης A από το φαινότυπο sIgA1 στον sIgA2 [53]. Αυτοί οι μηχανισμοί περιορίζουν τη μετατόπιση του μικροβιακού πληθυσμού από τον εντερικό αυλό στην κυκλοφορία, εμποδίζοντας έτσι μια συστηματική ανοσοαπόκριση.

➤ Ανοσορρύθμιση

Το μικροβίωμα του εντέρου έχει σημαντική επίδραση πάνω στην ανάπτυξη τόσο της έμφυτης όσο και της επίκτητης ανοσίας. Τα συστατικά και οι τύποι κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος που συμμετέχουν στην ανοσοτροποποιητική διαδικασία περιλαμβάνουν το λεμφικό εντερικό ιστό (GALT), τα T λεμφοκύτταρα (CD4 και CD8), η παραγόμενη από τα πλασματοκύτταρα IgA, καθώς και τα τοπικά μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα (εικόνα 3). Τα περισσότερα σχετικά δεδομένα προέρχονται από πειραματικές μελέτες που συνέκριναν μύες με φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα σε σχέση με μύες που είχαν στείρο μικροβίων “germ-free” (GF) εντερικό περιβάλλον. Παρατηρήθηκε ότι ο σπλήνας των τελευταίων, περιείχε λιγότερα και μικρότερα βλαστικά λεμφαδενικά κέντρα και μειωμένο αριθμό CD4+ T λεμφοκυττάρων, ότι η παραγωγή κυτταροκινών ήταν εξαρτώμενη από την ανοσιακή απόκριση τύπου Th2 και ότι τα ζώα αυτά είχαν ελαττωμένη ικανότητα έκκρισης αντιμικροβιακών παραγόντων. Ο επαναποικισμός των μυών αυτών με ειδικά για τους μύες βακτήρια κατάφερε να αντιστρέψει ορισμένες από τις εν λόγω διαταραχές, όπως έδειξε πειραματικά η αποκατάσταση της ανεπάρκειας των T κυττάρων, καθώς και της ανισορροπίας του λόγου Th1/Th2 των ΣΜ μυών, μετά από το μονήρη αποικισμό του εντέρου των μυών με το βακτήριο *Bacteroides fragilis* [54]



Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση κυττάρων και μεσολαβητών που εμπλέκονται στην ανοσορρύθμιση στο έντερο. Το μαύρο βέλος υποδεικνύει είτε φυσιολογική έκκριση είτε ενεργοποίηση. Το κόκκινο βέλος δείχνει παθολογικό συμβάν. Τα μπλε βέλη με στρογγυλεμένα άκρα δείχνουν την παρεμπόδιση των παθογόνων. Το SFB δείχνει βραχείες νηματώδεις βακτηρίδια [17]

Το εντερικό μικροβίωμα είναι επίσης απαραίτητο για την φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργικότητα των ρυθμιστικών T κυττάρων Foxp3⁺ (Treg). Ωστόσο, ο μηχανισμός με τον οποίο γίνεται η συγκεκριμένη διαμεσολάβηση δεν είναι ακόμη σαφής. Για παράδειγμα, στην περίπτωση του γένους *Clostridium*, η διαμεσολάβηση θα μπορούσε να είναι είτε ανεξάρτητη από τους PRR είτε εξαρτώμενη από μηχανισμούς που εξαρτώνται από το My-D88 [55]. Στην περίπτωση του *Bacillus fragilis*, η διέγερση των Tregs φαίνεται να προκαλείται από την σηματοδότηση TLR2 από τον πολυσακχαρίτη A. Τα SCFAs, ιδιαίτερα το βουτυρικό, έχουν επίσης εμπλακεί στην ανάπτυξη και λειτουργία των Tregs. Τα SCFAs φαίνεται πως ενεργοποιούν υποδοχείς συζευγμένους

με πρωτεΐνη G και ρυθμίζουν τα Tregs μέσω επιγενετικής ρύθμισης (αυξημένη ακετυλίωση) του τόπου Foxp3 [56].

Όπως ήδη αναφέρθηκε, τα πλασματοκύτταρα του εντερικού βλεννογόνου παράγουν εκκριτική IgA μετά την ενεργοποίησή τους από τα DCs. Αν και οι μηχανισμοί δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένοι, θεωρείται ότι αυτή η λειτουργία διαμεσολαβείται από τη σηματοδοτική οδό My-D88, η οποία μπορεί να ενεργοποιηθεί από το εντερικό μικροβίωμα. Επιπλέον, εκτός από την αλλαγή τάξης της εκκριτικής IgA, το εντερικό μικροβίωμα διεγείρει επίσης τα DCs στις πλάκες του Peyer με αποτέλεσμα την έκκριση TGF-β, CXCL13 και της πρωτεΐνης ενεργοποίησης των B-λεμφοκυττάρων (BAFF) [57].

Μια άλλη σειρά κυττάρων του ανοσολογικού συστήματος, τα εγγενή λεμφοκύτταρα (innate lymphoid cells, ILCs), ανταποκρίνονται άμεσα στα σήματα των κυτοκινών που παράγονται από το εντερικό επιθήλιο [58]. Τα ILCs έχουν χαρακτηριστικά λεμφικών κυττάρων και έχουν ένα πρότυπο έκφρασης κυτοκινών παρόμοιο με αυτό των T βοηθητικών λεμφοκυττάρων και ιδιαίτερα των Th17 κυττάρων. Με βάση τις λειτουργικές τους ιδιότητες, τα ILCs μπορούν να χωριστούν σε τρεις ομάδες: στην ομάδα 1 / T-bet +, ομάδα 2 / GATA-3 + και ομάδα 3 / RORγ +. Από αυτά, τα RORγ + ILCs φαίνεται να σχετίζονται περισσότερο με τη ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης στο έντερο. Παρόλο που οι ακριβείς μηχανισμοί είναι ασαφείς, πιστεύεται ότι το μικροβίωμα του εντέρου θα μπορούσε να ρυθμίσει τα ILCs τόσο άμεσα όσο και έμμεσα. Τα αποδεικτικά στοιχεία υπέρ του άμεσου μηχανισμού ρύθμισης προέρχονται από την παρατήρηση ότι ο βακτηριακός μεταβολίτης ινδολο-3-αλδεϋδη διεγείρει τα ILCs για την επαγωγή της σύνθεσης της IL22. Ο έμμεσος μηχανισμός της ρύθμισης της ILCs, από την άλλη πλευρά, γίνεται μέσω της στρατολόγησης άλλων ανοσοκυττάρων, όπως τα CX3CR1 + εντερικά μακροφάγα [17,59].

Η ανοσορρυθμιστική δράση των μακροφάγων του εντερικού βλεννογόνου είναι η έκφραση της pro-IL1β στην σταθερή της κατάσταση, η οποία βοηθά στην ταχεία παραγωγή ώριμης IL1β σαν απόκριση στην εισβολή παθογόνων μικροοργανισμών. Οι μηχανισμοί που εξαρτώνται από την οδό MyD-88 είναι ουσιώδεις για την παραπάνω διαδικασία. Παράλληλα το εντερικό μικροβίωμα ρυθμίζει την παραγωγής IL-10 από τα μακροφάγα, συμβάλλοντας έτσι στην εύρυθμη λειτουργία της οδού MyD-88 [60].

Εκτός από το μικροβίωμα, και άλλοι παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος του εντέρου. Για παράδειγμα, τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα (IECs) εκκρίνουν μια ισομορφή της αλκαλικής φωσφατάσης, την εντερική αλκαλική φωσφατάση, που αποφωσφορυλιώνει την LPS ενδοτοξίνη. Ένα άλλο παράδειγμα είναι η μειωμένη στρατολόγηση ουδετερόφιλων στον εντερικό αυλό σε απόκριση του παράγοντα νέκρωσης όγκων-α (TNF-α). Η δράση αυτή προκαλείται από την εντερική αλκαλική φωσφατάση [61]. Επιπροσθέτως, ένας ανοσοπροστατευτικός μηχανισμός που αποκτάται κατά τη γέννηση, είναι η καθοδική ρύθμιση της κινάσης που σχετίζεται με τον υποδοχέα της IL-1 (IRAK-1), η οποία δρα μέσω του TLR4 [62].

➤ Ακεραιότητα του εντερικού φραγμού και δομή του γαστρεντερικού σωλήνα

Επί του παρόντος, μεγάλος όγκος δεδομένων από τη διεθνή βιβλιογραφία υποστηρίζει το ρόλο του μικροβιώματος του εντέρου στη διατήρηση της δομής και της λειτουργίας της γαστρεντερικής οδού. Το *Bacteroides thetaiotaomicron* φαίνεται ότι επάγει την έκφραση της πλούσιας σε προλίνη πρωτεΐνης 2A (spr2A), η οποία απαιτείται για τη διατήρηση των δεσμοσωμάτων στο εντερικό επιθήλιο [63]. Περαιτέρω, το στέλεχος GG *Lactobacillus rhamnosus* παράγει δύο διαλυτές πρωτεΐνες, συγκεκριμένα τις p40 και

ρ75, οι οποίες μπορούν να προλάβουν την απόπτωση των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων μέσω οδών εξαρτώμενων από τον υποδοχέα του επιθηλιακού αυξητικού παράγοντα (EGFR) και την πρωτεϊνική κινάση C (PKC) [64]. Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα είναι μια άλλη οντότητα που ρυθμίζει τη διαμεσολαβούμενη από το εντερικό μικροβίωμα διατήρηση της λειτουργίας του εντερικού φραγμού. Για παράδειγμα, τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια *Akkermansia muciniphilia*, μπορούν να αυξήσουν τα επίπεδα των ενδοκανναβινοειδών που ελέγχουν τις λειτουργίες του εντερικού φραγμού, μειώνοντας την μεταβολική ενδοτοξαιμία [65].

Το μικροβίωμα του εντέρου συμβάλλει και στη δομική ανάπτυξη του εντερικού βλεννογόνου, ενεργοποιώντας τον μεταγραφικό παράγοντα αγγειογενίνη-3, ο οποίος εμπλέκεται και στην ανάπτυξη της εντερικής μικροαγγειοπάθειας [66]. Αυτό υποστηρίζεται επίσης και από τη σημαντική μείωση του τριχοειδικού δικτύου villus που παρατηρείται σε ποντίκια χωρίς βλαστικά κύτταρα (GF), με αποτέλεσμα τη μείωση της πέψης και της απορρόφησης των θρεπτικών ουσιών. Άλλα δεδομένα που υποστηρίζουν το ρόλο του μικροβιώματος του εντέρου στη διατήρηση της δομής και της λειτουργίας του, προκύπτουν από ποντίκια GF στα οποία παρατηρούνται μικρότερη έκταση εντερικής επιφάνειας, λεπτά πτερύγια, αύξηση του χρόνου του κυτταρικού κύκλου και μειωμένη περισταλτικότητα. Το εντερικό μικροβίωμα μπορεί επίσης να ρυθμίσει τα πρότυπα γλυκοζυλίωσης του βλεννογόνου. Για παράδειγμα, ένα μόριο σηματοδότησης που εκκρίνεται από τον οργανισμό *Bacteroides thetaiotaomicron* μπορεί να διεγείρει την έκφραση φουκόζης στην κυτταρική επιφάνεια [17,67].

2.4. Τροποποιητικοί παράγοντες

Διάφοροι παράγοντες συμβάλλουν στη διαμόρφωση του υγιούς μικροβιώματος του εντέρου.

➤ Ηλικία

Παρόλο που πιστεύεται ευρέως ότι το έντερο αποικίζεται από μικρόβια αμέσως μετά τη γέννηση, υπάρχουν ενδείξεις ότι ο εντερικός σωλήνας του βρέφους θα μπορούσε να αποικισθεί από μικροοργανισμούς ακόμη και εντός της μήτρας [68]. Μελέτες αλληλούχισης αποκάλυψαν ότι το μηκόνιο είναι πλούσιο σε βακτήρια όπως τα γένη *Escherichia-Shigella*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* και *Streptococcus* [69]. Παρ' όλα αυτά, είναι πλέον σαφές ότι το αρχικό προφίλ του εντερικού μικροβιώματος, καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από τον τρόπο τοκετού. Ο εντερικός σωλήνας των βρεφών που γεννιούνται με φυσιολογικό τοκετό, φαίνεται πως αρχικά αποικίζεται από μικροοργανισμούς που προέρχονται από τον κόλπο της μητέρας, με κυρίαρχα τα γένη *Lactobacillus* και *Prevotella*. Αντίθετα, κατά την καισαρική τομή, το μητρικό δερματικό μικροβίωμα, αποικίζει τον εντερικό σωλήνα του βρέφους, όπως υποδεικνύεται από την κυριαρχία των μικροβιακών γενών *Streptococcus*, *Corynebacterium* και *Propionibacterium* [68,70]. Το αρχικό μικροβίωμα του εντέρου του βρέφους φαίνεται ασταθές και στερείται ποικιλίας. Με την πάροδο όμως, του χρόνου σταθεροποιείται, διαφοροποιείται και στην ηλικία των 3 ετών έχει αποκτήσει ομοιότητα κατά 40% - 60% με το ενήλικο εντερικό μικροβίωμα. Αντίθετα, μελέτες έχουν δείξει ότι τα μικρά παιδιά και οι έφηβοι παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στις αναλογίες των *Bacteroides* και *Bifidobacterium* σε σύγκριση με τους ενήλικες. Ο μικροβιακός πληθυσμός γενικά διατηρείται σε σταθερή κατάσταση από την 3η έως την 7η δεκαετία της ζωής, παρόλο που οι πληθυσμοί των *Bifidobacteria*, *Firmicutes* και

Fecalibacterium prausnitzii τείνουν να μειώνονται, ενώ παράλληλα αυξάνονται εκείνοι των *E. Coli*, *Proteobacteria* και *Staphylococcus* [71,72] (εικόνα 4). Κάποιες από τις λειτουργικές επιπτώσεις της αλλαγής του εντερικού μικροβιώματος με την πάροδο του χρόνου, περιλαμβάνουν τη μειωμένη ικανότητα σύνθεσης βιταμίνης B12, τη μειωμένη δραστικότητα των μικροβιακών αναγωγασών, την αυξημένη τάση για μεταλλαγές στο DNA, την αυξημένη απόκριση στο στρες και την ανοσολογική δυσλειτουργία [73]. Παρόλο που η αρχικά αναπτυσσόμενη μικροχλωρίδα επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο της διατροφής (μητρικό γάλα ή υποκατάστατα), η διαμόρφωση του εντερικού μικροβιώματος κατά την πάροδο του χρόνου, επηρεάζεται από τα διαιτητικά πρότυπα, τον τρόπο ζωής, αλλά και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης αντιβιοτικών [17].



Νεογνική ηλικία		Παιδική ηλικία	Ενήλικες	Ηλικιωμένοι
Η μικροχλωρίδα εξαρτάται από τον τρόπο γέννησης. Φυσιολογικός τοκετός		Νέα στελέχη αντικαθιστούν παλαιότερα	Σχετικά σταθερή σύνθεση μικροχλωρίδας σε κάθε άτομο	Σημαντική διαφοροποίηση της μικροχλωρίδας σε σχέση με νεαρότερες ηλικίες
Η μικροχλωρίδα από τη μητέρα: <ul style="list-style-type: none"> Lactobacillus Prevotella 	Καισαρική τομή <ul style="list-style-type: none"> Streptococcus Corynebacterium Propionibacterium Ευπάθεια σε παθογόνα και αλλεργικές εκδηλώσεις 	Αύξηση της ποικιλομορφίας Μεταβολές λόγω διατροφής ή νόσου	Διαφοροποιημένη μικροχλωρίδα μεταξύ ατόμων Δυνατή η μεταβολή της μικροχλωρίδας αλλά με μικρότερο ρυθμό από ό,τι στην παιδική ηλικία	

Εικόνα 4. Μεταβολές της εντερικής χλωρίδας του ανθρώπου στις διάφορες ηλικίες. (τροποποίηση από Α.-Φ.Α. Μεντής και συν., ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE: ISSN 11-05-3992)

Στα πρόωρα βρέφη, τα βακτήρια που αποικίζουν τον εντερικό σωλήνα, περιλαμβάνουν κυρίως τα γένη *Bifidobacterium* και *Lactobacillus*, τα οποία διαφέρουν ανάλογα με τον τύπο της διατροφής. Στα βρέφη που τρέφονται με σκευάσματα γάλακτος, οι *Enterococcus*, *Enterobacteria*, *Bacteroides*, *Clostridia* και άλλοι αναερόβιοι στρεπτόκοκκοι κυριαρχούν στο εντερικό μικροβίωμα. Αντίθετα, στα βρέφη που τρέφονται με μητρικό γάλα, κυριαρχούν τα γένη *Bifidobacterium* και *Lactobacillus*. Το μητρικό γάλα περιέχει ολιγοσακχαρίτες ανθρώπινου γάλακτος (HMO), οι οποίοι διασπώνται εύκολα από αυτά τα βακτηρίδια. Το βρεφικό εντερικό μικροβίωμα φαίνεται ότι συντηρεί τον λεμφοειδή εντερικό ιστό (GALT) και εμπλέκεται στην ανάπτυξη της έμφυτης ανοσίας. Ως εκ τούτου, ο μικροβιακός αποικισμός του εντέρου μπορεί ανάλογα να οδηγήσει σε παιδιατρικές ασθένειες λόγω πτωχής ανοσίας [74,75].

➤ Διατροφή

Η πρωιμότερη επίδραση στο μικροβίωμα του εντέρου, είναι η πρώτη διατροφή του βρέφους, δηλαδή το μητρικό γάλα ή τα υποκατάστατα του. Όπως προαναφέρθηκε, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ουσιαστικές διαφορές στη μικροβιακή σύνθεση του εντέρου μεταξύ των παιδιών που θηλάζουν και αυτών που τρέφονται με υποκατάστατα. Το μητρικό γάλα περιέχει αρκετές βιοδραστικές ενώσεις, οι οποίες δεν είναι διαθέσιμες στα υποκατάστατα, και παίζουν σημαντικό ρόλο στην πέψη και απορρόφηση των θρεπτικών ουσιών, την καλή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και την άμυνα έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών [76]. Οι ολιγοσακχαρίτες του ανθρώπινου γάλακτος παρέχουν θρεπτικά συστατικά στα βακτηρίδια του παχέος εντέρου του βρέφους, προσφέροντας ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα ανάπτυξης στο *Bifidobacterium* sp. Αυτοί οι μικροοργανισμοί

συμμετέχουν στη ζύμωση των διατροφικών ολιγοσακχαριτών, με αποτέλεσμα την παραγωγή SCFAs, όπως το βουτυρικό, ενώ παράλληλα συμβάλουν στην υγιή διαμόρφωση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή για την έκφραση της IgG. Μελέτες έχουν δείξει ότι αρκετά στελέχη του *Bifidobacterium*, ιδιαίτερα του *Bifidobacterium longus subs infantis*, περιέχουν ένα μοναδικό σύμπλεγμα γονιδίων που κωδικοποιεί διάφορες γλυκοσιδάσες (σιαλιδάση, φουκοσιδάση, εξοζαμινιδάση και γαλακτοσιδάση) καθώς και απαραίτητους μεταφορείς για το μεταβολισμό των HMOs [77]. Αντίθετα, οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί όπως ο *Bacteroides sp.* και *Clostridium sp.*, φαίνεται να αφθονούν στον εντερικό σωλήνα βρεφών που τρέφονται με υποκατάστατα γάλακτος σε σύγκριση με αυτά που θηλάζουν [78]. Ακόμη και αν ο *Bacteroides sp.* μπορεί επίσης να μεταβολίσει τους HMOs, η ανάπτυξη του *Bifidobacterium* είναι μεγαλύτερη στα θηλάζοντα βρέφη, δείχνοντας έτσι την ανταγωνιστική σχέση μεταξύ αυτών των δύο μικροοργανισμών υπέρ του *Bifidobacterium* σε βρέφη που θηλάζουν.

Η διατροφή εξακολουθεί να είναι ο σημαντικότερος καθοριστικός παράγοντας στη διαμόρφωση της σύνθεσης και της ποικιλομορφίας ακόμη και καθ'όλη την ενήλικη ζωή. Γενικά, η πρόσληψη διατροφής πλούσιας σε φρούτα, λαχανικά και ίνες σχετίζεται με μεγαλύτερη ποικιλομορφία του μικροβιώματος του εντέρου. Τα άτομα που ακολουθούν αυτό το είδος δίαιτας, έχουν μεγαλύτερο αριθμό μικροοργανισμών του φύλου Firmicutes όπως οι *Ruminococcus bromii*, *Roseburia* και *Eubacterium rectale*, οι οποίοι μεταβολίζουν τους υδατάνθρακες [79]. Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι μια τετραήμερη χορήγηση διατροφής με βάση το κρέας, μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της αφθονίας των Firmicutes και σε αύξηση μικροοργανισμών που είναι ανθεκτικοί στην χολή όπως οι *Bacteroides sp.* από το φύλο Bacteroidetes και οι *Alistipes sp.* από

το φύλο *Bilophila* sp. Αυτό δείχνει ότι ακόμη και πολύ μικρής διάρκειας διαιτητικοί χειρισμοί, μπορούν να έχουν σημαντική επίδραση στο μικροβιακό πληθυσμό [80].

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχουν σημαντικές διακυμάνσεις στο εντερικό μικροβίωμα με βάση τη γεωγραφική και εποχική κατανομή. Ωστόσο, αυτές οι διακυμάνσεις συσχετίστηκαν επίσης και με διαφορές στα διατροφικά πρότυπα. Για παράδειγμα, αποδείχθηκε ότι τα παιδιά αγροτών της Αφρικής είχαν μεγαλύτερη ανάπτυξη της *Prevotella*, ενώ τα παιδιά από την Ευρώπη του *Bacteroides* [81]. Παρόλο που η *Prevotella* και ο *Bacteroides* είναι ταξικά και λειτουργικά παρόμοια γένη, η μεγαλύτερη ανάπτυξη της *Prevotella*, στα παιδιά της Αφρικής, συσχετίστηκε με την κατανάλωση φυτικών ινών. Αντίθετα, τα παιδιά από την Ευρώπη ακολουθούσαν το δυτικό πρότυπο διατροφής που είναι πλούσιο σε ζωικές πρωτεΐνες, ζάχαρη, άμυλο και φτωχό σε ίνες, και το οποίο συσχετίστηκε με την αφθονία του *Bacteroides*. Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι η ανάπτυξη του φύλου *Actinobacteria* ήταν σημαντικά υψηλότερη κατά τη διάρκεια της χειμερινής περιόδου σε σύγκριση με αυτή κατά τη διάρκεια των καλοκαιρινών μηνών. Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στην υψηλότερη πρόσληψη διατροφής με βάση το κρέας το χειμώνα, σε σύγκριση με την πλούσια σε φυτικές ίνες διατροφή κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού [82].

Οι πολυφαινόλες της διατροφής, εκτός από τις συστηματικές αντιμικροβιακές και μεταβολικές λειτουργίες τους, παίζουν επίσης ρόλο στην αναστολή ανάπτυξης των βακτηρίων του εντέρου. Η πολυφαινολική ένωση τερεκτίνη αποικοδομείται από τα *Bacteroides distasonis*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides ovatus*, *Enterococcus casseliflavus* και *Eubacterium ramulusare* και αποικοδομεί την φλαβανόνη hesperetin. Η τελευταία παρουσιάζει ανασταλτική δράση στην ανάπτυξη του *Staphylococcus aureus* και *H. Pylori* [83].

Τα φύκια αποτελούν σημαντικές πηγές βιοδραστικών ενώσεων με διάφορες βιολογικές δράσεις όπως αντιβακτηριακή, αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αντιπηκτική, αντι-ιική και αποπρωτική. Είναι πλούσια πηγή ινών με σχεδόν 50% -60% περιεκτικότητα σε υδατοδιαλυτές ίνες και πολυσακχαριτών όπως πορφυρένια και αγαράσες. Κάποια είδη κόκκινων φυκιών όπως τα *decipiens* *Palmaria* και *Pterocladia capillacea* περιέχουν πολυσακχαρίτες και οξέα (ξυλάνες και ξυλογαλακτάνες αντίστοιχα) [84]. Αρκετές μελέτες σε ανθρώπους και αρουραίους έχουν συσχετίσει τη χορήγηση φυκιών ως συμπλήρωμα διατροφής με σημαντική μεταβολή στο εντερικό μικροβίωμα. Στους ανθρώπους, η χορήγηση των φυκιών *Gelidium* σαν συμπλήρωμα, αύξησε σημαντικά την έκφραση του γένους *Bifidobacterium*, χωρίς καμία αλλαγή στα άλλα γένη. Παρατηρήθηκε επίσης αύξηση της παραγωγής των SCFAs [85]. Μια άλλη μελέτη που διεξήχθη σε Ιάπωνες, εξήγησε τη μεταφορά πορφυρανασών και αγαρασών στα εντερικά βακτήρια *Bacteroides plebius*, μέσω υδατανθρακικών ενεργών ενζύμων (CAZymes) [86]. Αυτές οι μελέτες ανέδειξαν τη χρησιμότητα των θαλάσσιων φυκιών ως πιθανών προβιοτικών.

➤ Αντιβιοτικά

Παρόλο που οι μελέτες για τα αντιβιοτικά γενικά επικεντρώνονται γύρω από τις βακτηριοκτόνες και βακτηριοστατικές τους δράσεις κατά των παθογόνων μικροοργανισμών, τα τελευταία χρόνια επικεντρώνονται στην επίδρασή τους στην βακτηριακή χλωρίδα του εντέρου με ολιστικό τρόπο. Ένας μεγάλος όγκος δεδομένων υποστηρίζει ότι η χρήση αντιβιοτικών έχει αρκετές βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες επιπτώσεις στο μικροβίωμα του φυσιολογικού εντέρου [87].

Μία από τις κυριότερες ιδιότητες του υγιούς μικροβιώματος του εντέρου κατά των παθογόνων μικροοργανισμών, είναι η ικανότητά του να προκαλεί ανταγωνιστικό αποκλεισμό [88]. Αποδείχθηκε, πριν από περίπου τέσσερις δεκαετίες, ότι τα αντιβιοτικά μπορούν να οδηγήσουν σε διακοπή του μηχανισμού ανταγωνιστικού αποκλεισμού, έχοντας σα δεδομένο τη μόλυνση από σαλμονέλα αμέσως μετά την χορήγηση αντιβιοτικής θεραπείας. Ένας από τους πιθανούς μηχανισμούς αυτής της εκδήλωσης, θα μπορούσε να είναι η απώλεια του δικτύου αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροβιακών ειδών του μικροβιώματος, με αποτέλεσμα την αύξηση του σιαλικού οξέος, η οποία με τη σειρά της προάγει την ανάπτυξη παθογόνων όπως τα *Salmonella typhimurium* και *Clostridium difficile* [89]. Έχει αποδειχθεί ότι η επίδραση ακόμη και της βραχυπρόθεσμης χορήγησης (7 ημερών) αντιβιοτικών ευρέως φάσματος με αναερόβια δράση (π.χ. Κλινδαμυκίνη), θα μπορούσε να διαρκέσει έως και 2 χρόνια, με επίμονη μη ανάκτηση της ποικιλίας *Bacteroides* [90]. Παρομοίως, μια σύντομης διάρκειας θεραπεία εκρίζωσης του *H. pylori* (τριπλό σχήμα που περιλαμβάνει κλαριθρομυκίνη), οδήγησε σε δραματική μείωση της ποικιλομορφίας των ακτινοβακτηρίων και σε αύξηση του γονίδιου αντοχής *ermB* κατά χίλιες φορές [91]. Η συγκεκριμένη επίδραση διήρκησε περισσότερο από 4 χρόνια σε ένα ποσοστό ασθενών, ενώ σε άλλους ανακτήθηκε νωρίτερα. Η επίδραση της σιπροφλοξασίνης, η οποία έχει κατά κύριο δράση έναντι των Gram θετικών και αρνητικών μικροοργανισμών, παρουσιάζεται με απότομη μείωση του *Ruminococcus* spp και είναι σχετικά βραχύβια [92]. Μια άλλη πρόσφατη μελέτη που αξιολόγησε το ρόλο της βραχείας διάρκειας θεραπείας (7 ημέρες) με σιπροφλοξασίνη και β-λακτάμες, έδειξε μείωση της μικροβιακής ποικιλομορφίας κατά 25% και των βασικών τάξεων μικροβίων από 29 σε 12, με αύξηση του λόγου *Bacteroidetes: Firmicutes* [93]. Η κύρια ανησυχία που απορρέει από τη χρήση αντιβιοτικών ευρέως φάσματος, εκτός από τη μεταβολή

της φυσιολογικής μικροβιακής πολυμορφίας του εντέρου, είναι το φαινόμενο της διάδοσης του στελέχους αντίστασης μέσω οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων [94]. Τα βακτηριακά είδη είναι ικανά να μεταφέρουν μεταλλαγμένη γενετική πληροφορία σε διαφορετικά είδη, μέσω μηχανισμών όπως η σύζευξη, η μεταγωγή φάγου και ο φυσικός μετασχηματισμός. Η γονιδιακή μεταφορά θα μπορούσε επίσης να γίνει μέσω τρανσποζονίων και ιντεγκρινών. Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη μιας δεξαμενής γονιδίων αντίστασης, και ως εκ τούτου επιβάλλει την εξαιρετική προσοχή στη χορήγηση αντιβιοτικών ευρέως φάσματος από τους κλινικούς ιατρούς.

2.5. Προβιοτικά, πρεβιοτικά και συνβιοτικά

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ορίζει τα προβιοτικά ως ζωντανούς μικροοργανισμούς που μπορούν να προσφέρουν οφέλη στην ανθρώπινη υγεία όταν χορηγούνται σε επαρκείς ποσότητες. Διάφορα είδη όπως το *Lactobacillus casei*, το *Lactobacillus planatarum*, το *Lactobacillus bulgaricus*, το *Lactobacillus acidophilus*, το *Bifidobacterium longum*, το *Bifidobacterium infantis*, το *Streptococcus thermophilus*, το *E. Coli* στέλεχος Nissle 1917, έχουν αποδειχθεί ότι προσφέρουν ανοσορρυθμιστικές λειτουργίες καθώς και λειτουργίες φραγής στο έντερο [17]. Αυτοί και αρκετοί άλλοι μικροοργανισμοί, έχουν χρησιμοποιηθεί ως μέρος της θεραπευτικής ανθρώπινων ασθενειών, όπως για το διαρροϊκό σύνδρομο που σχετίζεται με την χορήγηση αντιβιοτικών. Η προσθήκη ενός πρεβιοτικού θα μπορούσε ενδεχομένως να αυξήσει την επίδραση των προβιοτικών. Τα πρεβιοτικά ορίζονται ως συστατικά τροφίμων που περιέχουν μη εύπεπτους ολιγοσακχαρίτες (π.χ. γαλακτοολιγοσακχαρίτες και ινουλίνη). Ένα προβιοτικό μαζί με ένα πρεβιοτικό ονομάζονται συνβιοτικό. Αν και η EFSA

(European Food Safety Authority), αρνήθηκε τους ισχυρισμούς θετικής συσχέτισης των προβιοτικών με την καλή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού, λόγω έλλειψης ισχυρών αποδεικτικών στοιχείων ή κατανόησης των μηχανισμών δράσης τους, πλήθος μελετών καταδεικνύουν τη σημαντική προσφορά τους [95]. Πιθανώς η διαμόρφωση του εντερικού μικροβιώματος, μέσω της κατανάλωσης των κατάλληλων προβιοτικών και πρεβιοτικών, να μπορούσε να προστεθεί μελλοντικά στη θεραπευτική προσέγγιση συγκεκριμένων παθήσεων.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ

Τα τελευταία χρόνια στο επίκεντρο της επιστημονικής έρευνας παγκοσμίως, έχουν βρεθεί οι πιθανές συσχετίσεις της ανάπτυξης και εξέλιξης του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2) με το εντερικό μικροβίωμα. Αρκετές μελέτες υποστηρίζουν τη δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος σαν ένα καταλυτικό παράγοντα στην ταχεία ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη που παρατηρείται σε ασθενείς με ΣΔ2. Η δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος μπορεί να επηρεάσει τις λειτουργίες του εντερικού φραγμού καθώς και πλήθους μεταβολικών και σηματοδοτικών μονοπατιών, τα οποία έμμεσα ή άμεσα σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη στο ΣΔ2.

Σκοπός της παρούσας εργασίας, είναι η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, αναφορικά με τους παθοφυσιολογικούς και βιοχημικούς μηχανισμούς, που συσχετίζουν το εντερικό μικροβίωμα με το ΣΔ2. Τέλος θα αναφερθούν μελέτες που υποστηρίζουν την πιθανή χρησιμότητα αυτών των μηχανισμών στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών στο μέλλον.

2. ΜΕΘΟΔΟΙ

Για την εκπόνηση της παρούσας εργασίας ανασκόπησης χρησιμοποιήθηκε η βάση δεδομένων PubMed, Google Scholar και CrossRef και έγινε αναζήτηση των εξής λέξεων-κλειδιών: «Gut microbiome», «Gut microbiome and type 2 diabetes», «Gut microbiome and insulin resistance». Χρησιμοποιήθηκαν φίλτρα αναζήτησης ώστε να περιληφθούν άρθρα από κλινικές μελέτες, πολυκεντρικές μελέτες, βιβλιογραφικές ανασκοπήσεις (reviews) και μετα-αναλύσεις των τελευταίων ετών. Μετά από αξιολόγηση των περιλήψεων των άρθρων (abstracts), έγινε επιλογή εκείνων των άρθρων που αναφέρονταν στους πιθανούς βιοχημικούς και παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που συσχετίζουν τις δύο οντότητες.

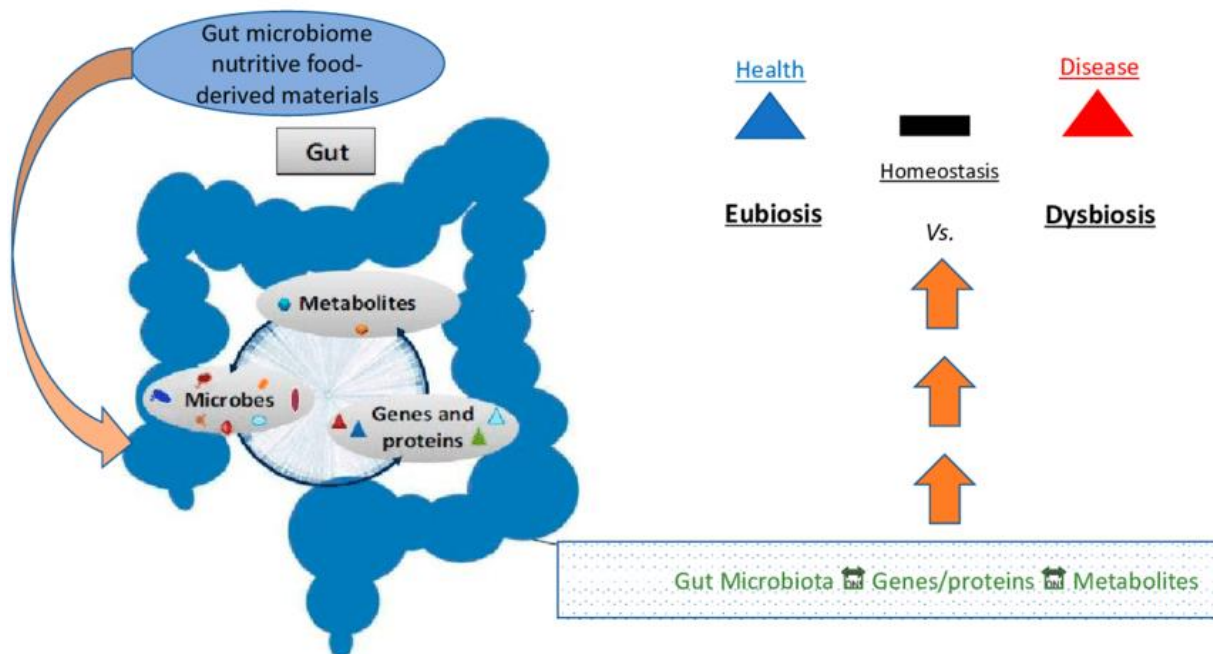
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το ενδιαφέρον για το ρόλο του μικροβιώματος του εντέρου στην ανάπτυξη μεταβολικών διαταραχών, όπως η παχυσαρκία και ο ΣΔ2, έχει αυξηθεί σημαντικά κατά την τελευταία δεκαετία. Αυτό οφείλεται εν μέρει στην εισαγωγή νέων και πιο εύχρηστων τεχνικών αλληλούχησης επόμενης γενιάς (next generation sequencing, NGS), σε συνδυασμό με την αυξημένη διαθεσιμότητα δειγμάτων και βιοψιών εντερικού ιστού.

Η παχυσαρκία έχει λάβει διαστάσεις παγκόσμιας επιδημίας, καθώς 35% των ατόμων κάτω των 40 ετών και άνω του 40% των ενηλίκων μέσης ηλικίας, θεωρούνται παχύσαρκοι. Οι ανθυγιεινές, συχνά υπερ-θερμιδικές δίαιτες και ο καθιστικός τρόπος ζωής, θεωρούνται από τους σημαντικότερους αιτιολογικούς παράγοντες στην ανάπτυξη της επιδημίας αυτής παγκοσμίως. Η παχυσαρκία μπορεί, με την πάροδο του χρόνου, να οδηγήσει σε διάφορες νοσολογικές οντότητες, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, η υπέρταση και ο ΣΔ2. Παρότι οι συμπεριφορικοί παράγοντες έχουν καταλυτικό ρόλο, φαίνεται ότι στην ανάπτυξη των μεταβολικών αυτών διαταραχών συμβάλλει και το γενετικό προφίλ του ατόμου. Πρόσφατη έρευνα σχετικά με το ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα υποστηρίζει την άποψη ότι το τελευταίο θα μπορούσε να ευνοήσει την ανάπτυξη παχυσαρκίας και αντίστασης στην ινσουλίνη, οδηγώντας τελικά σε ΣΔ2 [96].

3.1. Ευβίωση και δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος

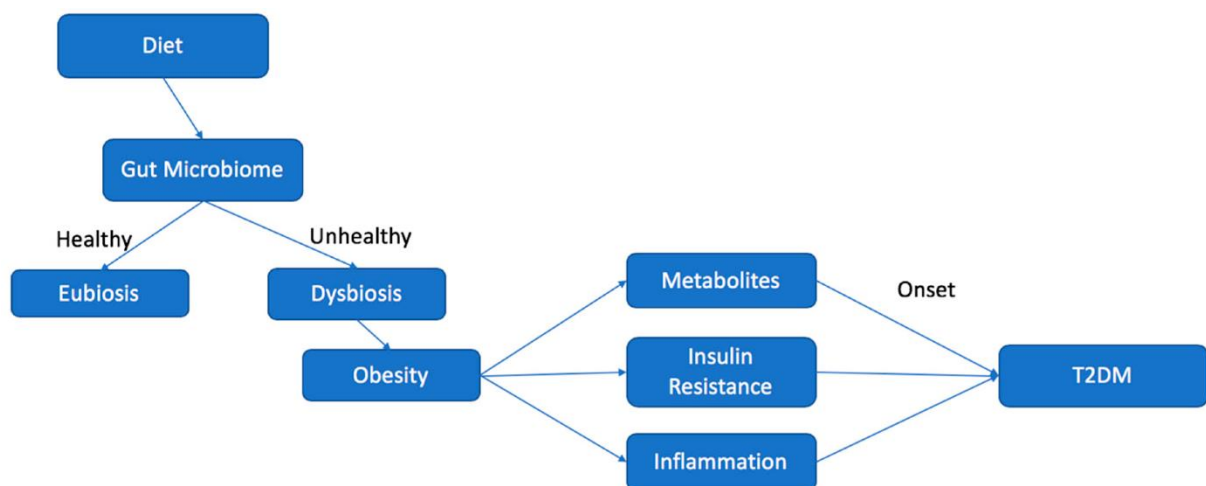
Η ευβίωση (από το ευ + βίος) αναφέρεται στο φυσιολογικό / υγιές προφίλ της εντερικής μικροχλωρίδας, σε αντίθεση με τη δυσβίωση (από το δυσ + βίος) που συνεπάγεται μία σύνθεση η οποία θα μπορούσε να οδηγήσει σε ορισμένες νοσολογικές οντότητες (εικόνα 5)



Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση της συσχέτισης του μικροβιώματος, των μεταβολιτών και της έκφρασης γονιδίων με τη διατήρηση ισορροπίας ευβίωσης/δυσβίωσης και της ανάπτυξης ασθένειας [97]

Σε κατάσταση ευβίωσης, το εντερικό μικροβίωμα παίζει καταλυτικό ρόλο στην παραγωγή SCFAs και αμινοξέων διακλαδισμένης αλυσίδας (branched chain amino acids, BCAAs), που επηρεάζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων και δημιουργούν άλλους μεταβολίτες με ρόλους-κλειδιά. Η ευβίωση συνεπάγεται μια κατάσταση ισορροπίας

κατά την οποία ο εντερικός βακτηριακός πληθυσμός αποτελείται κατά 95% από Bacteroidetes και 5% από Firmicutes, διατηρώντας έναν ιδανικό μεταξύ τους λόγο B/F. Όταν ο λόγος B/F διατηρείται σταθερός, βελτιστοποιείται η υγεία του εντέρου και ελέγχονται τα ευκαιριακά παθογόνα, συμβάλλοντας στη διατήρηση της ομοιόστασης και της υγείας του ατόμου [97]. Η δυσβίωση, από την άλλη πλευρά, μπορεί να οριστεί ως οποιαδήποτε αλλαγή στην φυσιολογική / επιθυμητή μικροχλωρίδα, σε ένα κατά τα άλλα υγιές έντερο. Στη συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων, η δυσβίωση έχει αρνητικό αντίκτυπο και μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση παχυσαρκίας και στην εμφάνιση αρκετών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου και του ΣΔ2 (εικόνα 6)



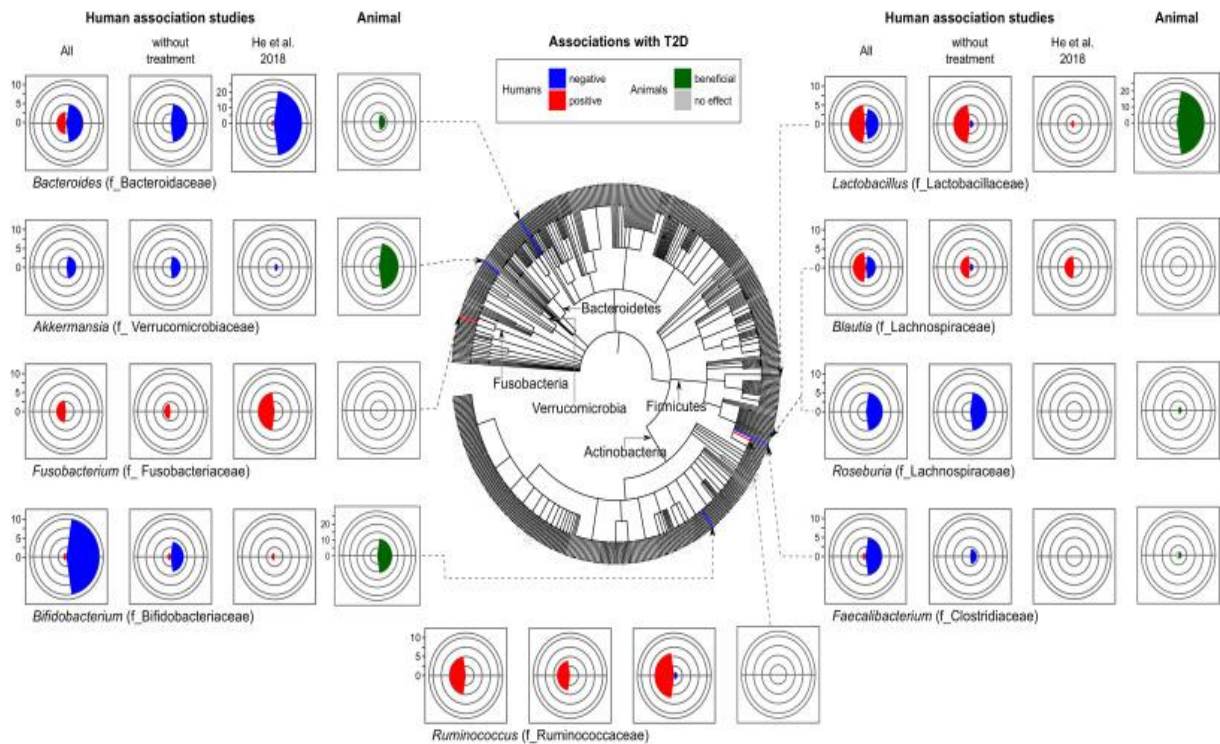
Εικόνα 6. Διάγραμμα που απεικονίζει την επίδραση της διαίτας στο εντερικό μικροβίωμα και τις συσχετίσεις που οδηγούν σε αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη ΣΔ 2 [97]

3.2 Βακτήρια του εντερικού μικροβιώματος που εμπλέκονται στην ανάπτυξη ΣΔ2

Οι περισσότερες μελέτες διερεύνησης του εντερικού μικροβιώματος σε σχέση με την ανάπτυξη ΣΔ2, αναφέρουν την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ συγκεκριμένων κατηγοριών βακτηρίων και της παρουσίας της νόσου. Μεταξύ των κοινών και σταθερά αναφερθέντων ευρημάτων, είναι ότι τα γένη *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Akkermansia* και *Roseburia* συσχετίστηκαν αρνητικά με το ΣΔ2, ενώ τα γένη *Ruminococcus*, *Fusobacterium* και *Blautia* συσχετίστηκαν θετικά (εικόνα 7). Το γένος *Lactobacillus* παρουσιάζει τα πιο διακριτά αποτελέσματα μεταξύ των μελετών, ενώ είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι οι διαφορετικές ιδιότητες των βακτηρίων, όπως πολλοί δείκτες ποικιλότητας, και ο λόγος *Bacteroidetes* / *Firmicutes* που είχαν προταθεί ως δείκτες μεταβολικής νόσου, δεν έδειξαν σταθερές συσχετίσεις με το ΣΔ2 [98].

Τα γένη που φαίνεται από τις μελέτες να έχουν προστατευτική δράση σχετικά με την ανάπτυξη της νόσου, είναι τα *Bacteroides* και το *Bifidobacterium*, με το τελευταίο να είναι το πιο σταθερά υποστηριζόμενο από τη βιβλιογραφία, ως δυνητικά προστατευτικό έναντι του ΣΔ2. Πράγματι, σχεδόν όλες οι μελέτες αναφέρουν αρνητική συσχέτιση μεταξύ αυτού του γένους και του ΣΔ2, ενώ μόνο μία ανέφερε αντίθετα αποτελέσματα [98]. Επιπλέον, μερικές μελέτες αναφέρουν αρνητική συσχέτιση μεταξύ συγκεκριμένων ειδών του γένους *Bifidobacterium*, όπως τα *B. Adolescentis*, *B. Bifidum*, *B. Pseudocatenulatum*, *B. Longum*, *B. Dentium* και της νόσου σε ασθενείς που έλαβαν μετορφίνη ή υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση γαστρικού bypass. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το *Bifidobacterium* δεν έχει χρησιμοποιηθεί μόνο του ως προβιοτικό για τους ασθενείς με ΣΔ2. Ωστόσο, σχεδόν όλες οι μελέτες σε ζώα που εξέτασαν διάφορα είδη από αυτό το γένος (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B.*

animalis, *B. pseudocatenuatum*, *B. breve*) έδειξαν βελτίωση της ανοχής της γλυκόζης. Έτσι, ενισχύεται η ιδέα ότι το *Bifidobacterium* που φυσιολογικά αποικίζει το ανθρώπινο έντερο ή λαμβάνεται ως προβιοτικά θα μπορούσε να έχει προστατευτικό ρόλο στο ΣΔ2 [98].



Εικόνα 7. Τα μικροβιακά γένη που βρέθηκαν συχνότερα να συσχετίζονται με το ΣΔ2 [98]

Το δεύτερο πιο συχνά αναφερόμενο γένος ήταν το *Bacteroides*, με αρκετές μελέτες να έχουν αναφέρει συσχετισμούς μεταξύ της αφθονίας αυτού του γένους και του ΣΔ2. Μεταξύ αυτών, πέντε μελέτες δείχνουν αρνητικές συσχετίσεις με τη νόσο ενώ τρεις άλλες μελέτες, που αφορούσαν κάποιο είδος θεραπείας, ανέφεραν θετικούς συσχετισμούς. Σε μελέτες που ανέλυαν αυτό το γένος σε επίπεδο είδους, τα *Bacteroides intestinalis*, *Bacteroides 20-3* και *Bacteroides vulgatus* ήταν μειωμένα σε ασθενείς με ΣΔ2, ενώ το *Bacteroides stercoris* αυξήθηκε μετά από χειρουργική

επέμβαση γαστρεκτομής sleeve (SG) σε ασθενείς με ΣΔ2. Σε δύο πειραματικές μελέτες σε ζώα, η χορήγηση *Bacteroides acidifaciens* και *Bacteroides uniformis* βελτίωσε τη δυσανεξία στη γλυκόζη και την αντίσταση στην ινσουλίνη σε διαβητικούς ποντικούς [98]. Στο σύνολό τους αυτές οι μελέτες υποδεικνύουν ότι το *Bacteroides* θα μπορούσε να έχει ωφέλιμο ρόλο στον μεταβολισμό της γλυκόζης και σε ανθρώπους.

Ενώ τα γένη *Roseburia*, *Faecalibacterium* και *Akkermansia* δεν αναφέρθηκαν τόσο συχνά όσο τα δύο παραπάνω (*Bifidobacterium*, *Bacteroides*), στις μελέτες που εξετάσαμε, τα γένη αυτά βρέθηκαν επίσης να συσχετίζονται αρνητικά με το ΣΔ2. Σε πέντε μελέτες, το *Roseburia* βρέθηκε σε χαμηλότερες συχνότητες στην ομάδα των ασθενών με ΣΔ2 παρά στους υγιείς μάρτυρες. Συνεπώς, οι έρευνες που ήταν σε θέση να μελετήσουν το γένος *Roseburia* σε επίπεδο είδους, ανέφεραν αρνητική συσχέτιση με την ασθένεια για τα είδη *Roseburia inulinivorans*, *Roseburia_272* και ένα μη ταξινομημένο είδος [98]. Μόνο μία μελέτη ανέφερε αντίθετο αποτέλεσμα για το *Roseburia intestinalis* [98].

Δύο μελέτες ανέφεραν χαμηλότερες συχνότητες του γένους *Faecalibacterium* στην ομάδα ασθενειών με ΣΔ2. Επιπροσθέτως, αυτό το γένος βρέθηκε να μειώνεται μετά την χορήγηση αντιδιαβητικών θεραπειών (μετφορμίνη) ή βariatρική χειρουργική επέμβαση, με μόνο μία μελέτη να αναφέρει αντίθετο αποτέλεσμα. Επιπλέον, σε τέσσερις από τις πέντε μελέτες που ήταν σε θέση να αναλύσουν αυτό το γένος σε επίπεδο είδους, φαίνεται ότι το *F. Prausnitzii* σχετίζεται αρνητικά με το ΣΔ2. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι σε μία μελέτη η χορήγηση του *F. Prausnitzii* είχε ως αποτέλεσμα βελτίωση της ηπατικής λειτουργίας και μείωση της λιπώδους διήθησης στο ήπαρ σε ποντίκια με ΣΔ2, χωρίς να επηρεάζεται το επίπεδο γλυκόζης του αίματος. Τέλος, αποδείχθηκε ότι ένα άλλο είδος αυτού του γένους, το *Faecalibacterium cf*, συσχετίστηκε με ύφεση του διαβήτη μετά από βariatρική χειρουργική επέμβαση [98].

Το γένος *Akkermansia muciniphila* είναι ένα σχετικά πρόσφατα ανακαλυφθέν μέλος του εντερικού μικροβιώματος. Η ευεργετική επίδραση του στο μεταβολισμό της γλυκόζης του ξενιστή αναφέρθηκε για πρώτη φορά σε μελέτες με ζωικά μοντέλα, ενώ η αρνητική συσχέτιση μεταξύ της αφθονίας αυτού του γένους και του ΣΔ2 έχει αναφερθεί και σε μελέτες σε ανθρώπους [98].

Συνοπτικά, σε μεγάλο αριθμό μελετών παρατηρήθηκε μείωση σε τουλάχιστον ένα από τα πέντε γένη βακτηρίων (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Roseburia*, *Faecalibacterium*, και *Akkermansia*) σε ασθενείς με ΣΔ2, κάτι που υποδηλώνει ότι ο δυνητικός τους ρόλος είναι πέρα από το να λειτουργούν ως βιοδείκτες [98]. Υποστηρίζοντας αυτή την ιδέα, η πλειοψηφία αυτών των βακτηριδίων έχουν δοκιμαστεί ως προβιοτικά σε ποντικούς με ΣΔ2, αλλά σπανιότερα σε ανθρώπους.

Το γένος *Lactobacillus* παρουσιάζει σε αρκετές μελέτες θετική συσχέτιση με την ανάπτυξη ΣΔ2, αν και αρκετές περιπτώσεις αυτή εξαρτάται από συγκεκριμένο είδος του βακτηρίου. Για παράδειγμα, ενώ τα είδη *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. salivarius* αυξήθηκαν, το *L. amylovorus* μειώθηκε σε ασθενείς με ΣΔ2, υποδηλώνοντας μεγάλη ποικιλομορφία στη λειτουργική επίδραση στο μεταβολισμό του ξενιστή. Επιπλέον, αρκετά είδη από αυτό το γένος έχουν επίσης δοκιμαστεί ως προβιοτικά. Πειραματικές μελέτες σε ποντίκια, δείχνουν κυρίως ευεργετικά αποτελέσματα από διάφορα είδη όπως το *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. curvatus*, *Gasseri*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. sakei*. Το πιο σημαντικό είναι ότι έχουν γίνει είκοσι πέντε κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους, που χρησιμοποίησαν δώδεκα διαφορετικά είδη του γένους *Lactobacillus*, με δέκα από αυτές τις μελέτες να προσθέτουν και άλλα προβιοτικά. Από τις έντεκα μελέτες που έδειξαν κάποιο προστατευτικό ρόλο, η πλειοψηφία είχε προσθέσει και άλλα γένη, πιο συχνά το *Bifidobacterium*, υποδηλώνοντας ότι το *Lactobacillus* και το *Bifidobacterium* μπορούν να λειτουργούν συνεργικά. Το είδος *L.*

plantarum μελετάται έντονα σε μελέτες σε ζωικά συστήματα, με πολλές εξ αυτών να δείχνουν ότι βελτιώνει τον μεταβολισμό της γλυκόζης τόσο σε διατροφικά όσο και σε γενετικά μοντέλα ποντικών με ΣΔ2 [98]. Ωστόσο, αυτό το είδος δεν είχε σημαντική επίδραση στον μεταβολισμό της γλυκόζης σε τέσσερις κλινικές δοκιμές. Έτσι, φαίνεται ότι η αντιδιαβητική δράση του γένους *Lactobacilli* παρατηρείται πιο συχνά όταν αυτό αποτελεί μέρος ενός προβιοτικού κοκτέιλ αντί να χορηγείται μεμονωμένα [98].

3.3. Σημαντικά μεταβολικά προϊόντα του εντερικού μικροβιώματος

Είναι πλέον γνωστό ότι το εντερικό μικροβίωμα συμβάλλει στη ζύμωση των δύσπεπτων υδατανθράκων, με αποτέλεσμα την παραγωγή των SCFAs, ως υποπροϊόν της διαδικασίας αυτής. Τα τελευταία διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία του εντερικού φραγμού, μέσω ανάπτυξης ισχυρών κυτταρικών συνδέσεων, όπως έχει ήδη αναφερθεί. Όταν η αναλογία B / P μεταβληθεί, οι πρωτεΐνες που σχηματίζουν τις συνδέσεις μειώνονται, με αποτέλεσμα την πιθανή μετατόπιση λιποπολυσακχαριτών (LPS). Η μετατόπιση των LPS αποτελεί ένα σημαντικό πρώτο βήμα στην ενεργοποίηση του ανοσολογικής απάντησης. Οι LPS στη συνέχεια δεσμεύονται με τον υποδοχέα toll-like receptor 4 (TLR4), με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση και τον διμερισμό και των δύο [99]. Από τη στιγμή που ο συγκεκριμένος διμερισμός λάβει χώρα, στρατολογούνται καθοδικά μόρια τα οποία με τη σειρά τους ενεργοποιούν την κινάση που συνδέεται με τον υποδοχέα της IL-1, τον παράγοντα που σχετίζεται με τον υποδοχέα του TNF, την κινάση που σχετίζεται με τον μετασχηματισμό του αυξητικού παράγοντα B, τις αμινο-τερματικές κινάσες c-Jun (JNK) και τις IκB κινάσες (IKK). Αυτή η ενεργοποίηση των JNK και IKK μπορεί επίσης να προκαλέσει

φωσφορυλίωση σερίνης των υποδοχέων της ινσουλίνης (insulin receptor substrates, IRSs), ένα σημαντικό βήμα στην ανάπτυξη της αντίστασης στην ινσουλίνη [99]. Το νεοσυσταθέν σύμπλεγμα IKK συναντά στη συνέχεια τον πυρηνικό παράγοντα του ενισχυτή των κ ελαφρών αλύσεων των ενεργοποιημένων Β κυττάρων (NF-κΒ), και τον ενεργοποιεί. Στη συνέχεια, ο NF-κΒ με τη σειρά του μετατοπίζεται στον πυρήνα, ενεργοποιώντας τη φλεγμονώδη απόκριση [99].

➤ Λιποπολυσακχαρίτες (Lipopolysaccharides, LPS)

Η μετατόπιση των LPS θεωρείται ένα από τα πρώτα βήματα στην προ-φλεγμονώδη απόκριση. Για να υπογραμμιστεί περαιτέρω η σημασία της δυσβίωσης, των LPS και της φλεγμονής, οι Whelan *et al.*, χορήγησαν σε ποντίκια δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, ή δίαιτα με συμπλήρωμα LPS σε χαμηλή δόση ή δίαιτα ελέγχου. Τα ποντίκια που είχαν στη διατροφή τους LPS, ανέπτυξαν παχυσαρκία με τον ίδιο τρόπο που ανέπτυξαν και τα ποντίκια που έλαβαν την υψηλή σε λιπαρά διατροφή [97]. Εντούτοις, όταν στα ποντίκια που στερούνταν την πρωτεΐνη CD14, μια ανοσοπρωτεΐνη υπεύθυνη για τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις, χορηγήθηκε δίαιτα με LPS, δεν παρατηρήθηκε αύξηση του σωματικού τους βάρους [100]. Και στη δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και στη δίαιτα που συμπληρώθηκε με LPS, ήταν δυνατή η εμφάνιση της δέσμευση TLR-4. Ωστόσο, επί απουσίας της CD14, η φλεγμονώδης απάντηση δεν ξεκίνησε ποτέ. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν ληφθεί και από μελέτες σε ποντίκια που δεν εκφράζουν TLR-4 [101].

➤ Λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας (Short Chain Fatty Acids, SCFAs)

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, τα SCFAs είναι πολύ σημαντικά στη ρύθμιση της φλεγμονώδους απόκρισης και μια μείωση στα Bacteroidetes έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των SCFAs. Το βουτυρικό, ένας τύπος SCFA, είναι ο κύριος και σημαντικότερος μεταβολίτης για την υγεία του εντέρου. Αν και ο ρόλος του δεν είναι πλήρως κατανοητός, η δεδομένη αξία του τονίζεται μέσα από σειρά πειραμάτων. Σε μελέτη του Gao *et al.*, χορηγήθηκε σε ποντικούς βουτυρικό νάτριο ως συμπλήρωμα διατροφής, ενώ ταυτόχρονα παρακολουθήθηκαν η ευαισθησία τους στην ινσουλίνη και ο μεταβολικός ρυθμός τους για 16 εβδομάδες. Παρατηρήθηκε ότι τα ποντίκια που κατανάλωσαν υψηλή σε λιπαρά δίαιτα αλλά έλαβαν συμπληρώματα βουτυρικού δεν εμφάνισαν αντίσταση στην ινσουλίνη ή παχυσαρκία [102].

Ενδιαφέροντα είναι τα συμπεράσματα μιας μελέτης που συνέκρινε το εντερικό μικροβίωμα κατοίκων της Ιταλίας σε σύγκριση με εκείνο μιας κοινότητας κυνηγών-συλλεκτών που ονομάζεται Hadza και βρίσκεται στην Τανζανία. Αναλύθηκαν δείγματα κοπράνων από 27 Hadza και 16 Ιταλούς και ενώ μεγάλο μέρος αυτής της μελέτης επικεντρώθηκε σε δημογραφικά στοιχεία για το εντερικό μικροβίωμα, αναλύθηκε επίσης και το προφίλ των SCFA. Συμπερασματικά, διαπιστώθηκε ότι οι Ιταλοί παρήγαγαν πολύ περισσότερο βουτυρικό, ενώ οι Hadza προπιονικό [103]. Αυτό είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον, καθώς το βουτυρικό οξύ συνδέεται τυπικά με την παρουσία Firmicutes και το προπιονικό με Bacteroidetes, αλλά η περίσσεια Firmicutes συνδέεται και με την αύξηση βάρους. Βάσει των συγκεκριμένων παρατηρήσεων, θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι τα συμπληρώματα βουτυρικού στα άτομα της συγκεκριμένης μελέτης, δεν θα προσέφεραν κάποιο όφελος. Εντούτοις, μπορεί να υποστηριχθεί ότι αυτό υπογραμμίζει περαιτέρω τη σπουδαιότητα των SCFA. Ακόμη και σε αντίξοες συνθήκες, ο φαινότυπος βελτιώνεται, δείχνοντας ότι η παρουσία των SCFA λειτουργεί με διορθωτικό τρόπο στο έντερο. Είναι επίσης σημαντικό να σημειωθεί ότι κάποια

στελέχη *Bacteroidetes* μπορούν να παράγουν βουτυρικό, πράγμα που σημαίνει ότι σε ένα ιδανικό λόγο B / F, το βουτυρικό που παράγεται από τα *Bacteroidetes* μπορεί να αντισταθμίσει την έλλειψη παραγωγής από τα *Firmicutes*, αποκαθιστώντας, τουλάχιστον μερικώς, τη μεταβολική ισορροπία στο περιβάλλον του εντέρου [97].

Με βάση τις τρέχουσες γνώσεις, το εντερικό μικροβίωμα παίζει σημαντικό ρόλο στις φλεγμονώδεις αποκρίσεις, τόσο από μόνο του όσο και σε αλληλεπίδραση με τη δίαιτα του ατόμου [104]. Ο Mackay *et al.*, μελέτησαν την κολίτιδα σε germ-free (GF) και conventionally raised (CONV) ποντίκια. Οι ποντικοί υποβλήθηκαν σε κατάλληλη φαρμακευτική αγωγή ώστε να προκληθεί χημική κολίτιδα. Τα GF ποντίκια είχαν πολύ χειρότερη κλινική πορεία από τα CONV ποντίκια, παρουσιάζοντας πολύ μεγαλύτερο βαθμό εντερική φλεγμονή. Επιπλέον, όταν τα GF ποντίκια στη συνέχεια αποικίστηκαν με εντερικό μικροβίωμα από τα CONV, ο βαθμός φλεγμονής μειώθηκε. Για να προσδιοριστεί η αιτία αυτής της μείωσης, GF ποντίκια που δεν αποικίστηκαν με το άνωθεν εντερικό μικροβίωμα, υποβλήθηκαν σε αγωγή με οξικό οξύ, ένα SCFA που είναι γνωστό ότι παράγεται από τα *Bacteroidetes*. Αυτό επίσης προκάλεσε μείωση των συμπτωμάτων κολίτιδας, υπογραμμίζοντας περαιτέρω τη σημασία των SCFA στη φλεγμονώδη απόκριση [105]. Επιπλέον, πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι το εντερικό περιβάλλον ανταποκρίνεται σε μεγάλο βαθμό σε μια ποικιλία βιοδραστικών ενώσεων που απαντώνται στα τρόφιμα (συνήθως φρούτα και λαχανικά) με τρόπους που μειώνουν τον κίνδυνο για πολλές χρόνιες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένων των ΣΔ2 και διάφορων καρκίνων [106].

- Αμινοξέα μακράς αλυσού (Branched Chain Amino Acids, BCAAs)

Αν και τα αυξημένα επίπεδα SCFAs φαίνεται να είναι ωφέλιμα στην πρόληψη του ΣΔ2, αυτό δεν συμβαίνει απαραίτητα και με τα BCAAs. Τρία από τα εννέα απαραίτητα αμινοξέα ανήκουν στην κατηγορία των BCAAs (λευκίνη, ισολευκίνη και βαλίνη) και η πρόσληψή τους στους ανθρώπους γίνεται μέσω της διατροφής. Αυξημένα επίπεδα BCAAs έχουν παρατηρηθεί σε παχύσαρκα άτομα και σε άτομα με ΣΔ2, με τα παχύσαρκα άτομα να παρουσιάζουν ταυτόχρονα αυξημένο καταβολισμό BCAA [107]. Οι επιπτώσεις της παραγωγής BCAAs και της αντίστασης στην ινσουλίνη είναι αρκετά σύνθετες. Έχει αποδειχθεί ότι τα BCAAs παρεμβαίνουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι της ινσουλίνης, διεγείροντας το mTOR [108], ένα σύμπλεγμα κινασών που παίζει σημαντικό ρόλο στη πρωτεϊνοσύνθεση, την S6K1, μια κινάση σημαντική για την κυτταρική ανάπτυξη και τη φωσφορυλίωση του υποστρώματος του υποδοχέα ινσουλίνης 1 (IRS1) [107]. Ο Newgard και οι συνεργάτες μελέτησαν αρουραίους στους οποίους είχαν χορηγήσει διατροφή πλούσια σε λιπαρά (High Fat Diet, HFD), είτε HFD μαζί με συμπλήρωμα με BCAA, είτε διατροφή ελέγχου (Normal Diet, ND). Οι αρουραίοι ακολούθησαν νηστεία για 48 ώρες, και στη συνέχεια τους επαναχορηγήθηκε η αρχική τους δίαιτα. Κατά την επαναχορήγηση, παρατηρήθηκε εμφανής αύξηση της ποσότητας phospho-mTOR^{Ser2448}, phospho-S6K1^{Thr389} και phospho-IRS1^{Ser302} στους αρουραίους της ομάδας HFD με συμπλήρωμα BCAA, σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες. Στην ίδια μελέτη, στους αρουραίους HFD / BCAA παρατηρήθηκε επίσης χαμηλότερη πρόσληψη τροφής και μικρότερη αύξηση βάρους σε σχέση με τους αρουραίους ND (μάρτυρες), ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε ίση ανθεκτικότητα στην ινσουλίνη σε σχέση με τους αρουραίους HFD [107]. Αυτές οι παρατηρήσεις συμβάλλουν στην αποσαφήνιση του ρόλου των BCAAs στην οδό σηματοδότησης της ινσουλίνης και του τρόπου με τον οποίο τα αυξημένα επίπεδα BCAAs συμβάλλουν στην εκ των προτέρων ρύθμιση αυτής της οδού.

Σε μια διαφορετική μελέτη, που περιελάμβανε ανθρώπους, 2.422 νορμογλυκαιμικά άτομα παρακολουθήθηκαν για 12 χρόνια, 201 από τα οποία εμφάνισαν στην πορεία ΣΔ2. Τα επίπεδα αμινοξέων, αμινών και άλλων μεταβολίτων καταγράφονταν κατά τη διάρκεια της μελέτης με τη χρήση της υγρής χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας. Η ισολευκίνη, η λευκίνη και η βαλίνη παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις κατά τη διάρκεια της νηστείας, ενώ τα επίπεδα αυξάνονταν μέχρι και 12 έτη πριν από την εμφάνιση του ΣΔ2. Αυτές οι παρατηρήσεις συσχετίστηκαν με μια τετραπλάσια αύξηση στην επίπτωση του ΣΔ2 [109].

➤ Χολικά οξέα

Τα χολικά οξέα διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο τόσο στη διατήρηση της ανθρώπινης υγείας όσο και στην ανάπτυξη μεταβολικών νοσημάτων, κυρίως επειδή λειτουργούν ως σηματοδοτικά μόρια που μπορούν να ενεργοποιήσουν υποδοχείς στο έντερο, στο ήπαρ και στον λιπώδη ιστό [110]. Τα πρωτογενή χολικά οξέα (χολικό και χηνοδεοξυχολικό οξύ) παράγονται στο ήπαρ, μέσω μίας σύνθετης οδού που περιλαμβάνει τουλάχιστον 17 ένζυμα και είναι υπό τον έλεγχο του πυρηνικού υποδοχέα Farnesoid X (FXR) και των καθοδικών στόχων του, FGF_{15/19} (στο έντερο) και μικρά ετεροδιμερή (στο ήπαρ) [111]. Μετά την έκκρισή τους στο έντερο, τα χολικά οξέα υποβάλλονται σε τροποποιήσεις από το μικροβίωμα του εντέρου [112,113]. Τα πρωτογενή χολικά οξέα μεταβολίζονται σε δευτερογενή χολικά οξέα (δεοξυχολικό και λιθοχολικό οξύ) μέσα από πολυάριθμες αντιδράσεις που διεξάγονται κυρίως από τα βακτηρίδια που ανήκουν στο φύλο Firmicutes [114]. Έχει αποδειχθεί σε ποντικούς, ότι το μικροβίωμα ρυθμίζει την έκφραση αρκετών ενζύμων-κλειδιών που συμμετέχουν στο σχηματισμό χολικών οξέων, συμπεριλαμβανομένων των CYP_{7A1} και του CYP_{27A1}, μεταβάλλοντας τη σύνθεση της δεξαμενής των χολικών οξέων, μέσω του FXR. Εκτός

από τη σύνθεση και την τροποποίηση των χολικών οξέων, η πρόσληψή τους στο έντερο φαίνεται επίσης να ρυθμίζεται από το εντερικό μικροβίωμα. Η έκφραση του εξαρτώμενου από νάτριο μεταφορέα χολικού οξέος, ενός μεταφορέα που βρίσκεται στο λεπτό έντερο και είναι υπεύθυνος για την πρόσληψη χολικών οξέων, φαίνεται να είναι μειωμένη σε συμβατικά ποντίκια σε σύγκριση με τα αντίστοιχα ποντίκια GF [115]. Τα δεδομένα που υποστηρίζουν τη συμμετοχή των χολικών οξέων στην ανάπτυξη μεταβολικών νοσημάτων, προέρχονται κυρίως από μεγάλες μελέτες σε ποντίκια. Για παράδειγμα, το συμπλήρωμα χολικού οξέος μείωσε την αύξηση του σωματικού βάρους και την αντίσταση στην ινσουλίνη σε HFD ποντίκια [116]. Ο υποδοχέας FXR και ο καθοδικός στόχος του $FGF_{15/19}$, έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζουν τον μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων [117]. Η τεχνητή αναστολή του FXR μείωσε τη συγκέντρωση χολικών οξέων, την αύξηση βάρους και τη δυσανεξία στη γλυκόζη σε ποντικούς που έλαβαν διατροφή HFD [118]. Περαιτέρω, μέσω ενεργοποίησης του συζευγμένου με G πρωτεΐνη υποδοχέα TGR_5 , έχει αποδειχθεί ότι τα χολικά οξέα προάγουν την έκκριση GLP-1 (αντιδιαβητική δράση) [117] και αυξάνουν το μεταβολικό ρυθμό [116]. Υψηλότερες συγκεντρώσεις δεοξυχολικού οξέος έχουν συσχετιστεί με παχυσαρκία σε ποντίκια [119]. Το ταυρο-β-μουριχολικό οξύ, ένας ενδογενής ανταγωνιστής του FXR [116,115] μεταβολίζεται από το εντερικό μικροβίωμα. Συνεπώς, τα ποντίκια GF δεν είναι σε θέση να μεταβολίσουν αυτό το χολικό οξύ. Αυτή η ικανότητα έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί προϋπόθεση για την πρόκληση παχυσαρκίας, ηπατικής στεάτωσης, μειωμένης ανοχής γλυκόζης και μειωμένης ευαισθησίας στην ινσουλίνη [115]. Οι υποδοχείς των χολικών οξέων FXR και TGR_5 φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη μεταβολικών νοσημάτων [110]. Τα χολικά οξέα που παράγονται από το μικροβίωμα του εντέρου μπορούν να τροποποιήσουν σηματοδοτικά μονοπάτια

μέσω αυτών των υποδοχέων, και ως εκ τούτου ενδέχεται να έχουν τη δυνατότητα να μεταβάλλουν το μεταβολισμό λιπιδίων και γλυκόζης στους ανθρώπους.

Στους ανθρώπους, τα χολικά οξέα έχουν εμπλακεί και στη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής [120]. Επιπλέον, αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούντων χολικών οξέων έχουν παρατηρηθεί σε παχύσαρκους ασθενείς με ΣΔ2 και έχει αποδειχθεί η συσχέτισή τους με το BMI [120]. Επιπροσθέτως, η ορθολογική χορήγηση του ταυροδεοξυχολικού οξέος σε παχύσαρκους ασθενείς με ΣΔ2, βελτίωσε την ομοιόσταση της γλυκόζης και μείωσε την πρόσληψη τροφής από τους ασθενείς [121]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον για το ρόλο των χολικών οξέων στη ρύθμιση του ενεργειακού ισοζυγίου, προέκυψε από τις παρατηρήσεις ότι ο μεταβολισμός τους επηρεάζεται σημαντικά μετά από βariatρική χειρουργική επέμβαση [122]. Τα επίπεδα των κυκλοφορούντων πρωτογενών και δευτερογενών χολικών οξέων, αυξάνονται μετά από βariatρική χειρουργική επέμβαση και συσχετίζονται με καλύτερο έλεγχο γλυκόζης [122]. Τα σηματοδοτικά γεγονότα που μεσολαβούνται από τα χολικά οξέα, αυξάνονται στα άτομα μετά από Roux-en-Y γαστρική παράκαμψη (RYGB). Το γεγονός αυτό συσχετίζεται με την απελευθέρωση ορμονών του εντέρου που προάγουν τον κορεσμό, όπως οι GLP-1 και PYY [123]. Οι ευεργετικές επιδράσεις της RYGB στον ενεργειακό μεταβολισμό, παρατηρήθηκαν μετά από εκτροπή της χολικής ροής από το δωδεκαδάκτυλο στον ειλεό, σε αρουραίους, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα χολικά οξέα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ηπατική στεάτωση και στο μεταβολισμό των λιπιδίων και της γλυκόζης [124]. Τα ζώα αυτής της μελέτης έχασαν περίπου 20% του σωματικού τους βάρους.

Η αλληλεπίδραση μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος και των χολικών οξέων επηρεάζει το μεταβολισμό του ξενιστή. Ωστόσο, οι περισσότερες από τις μελέτες που αξιολογούν τις οδούς που εμπλέκονται σε αυτή την αλληλεπίδραση, έχουν

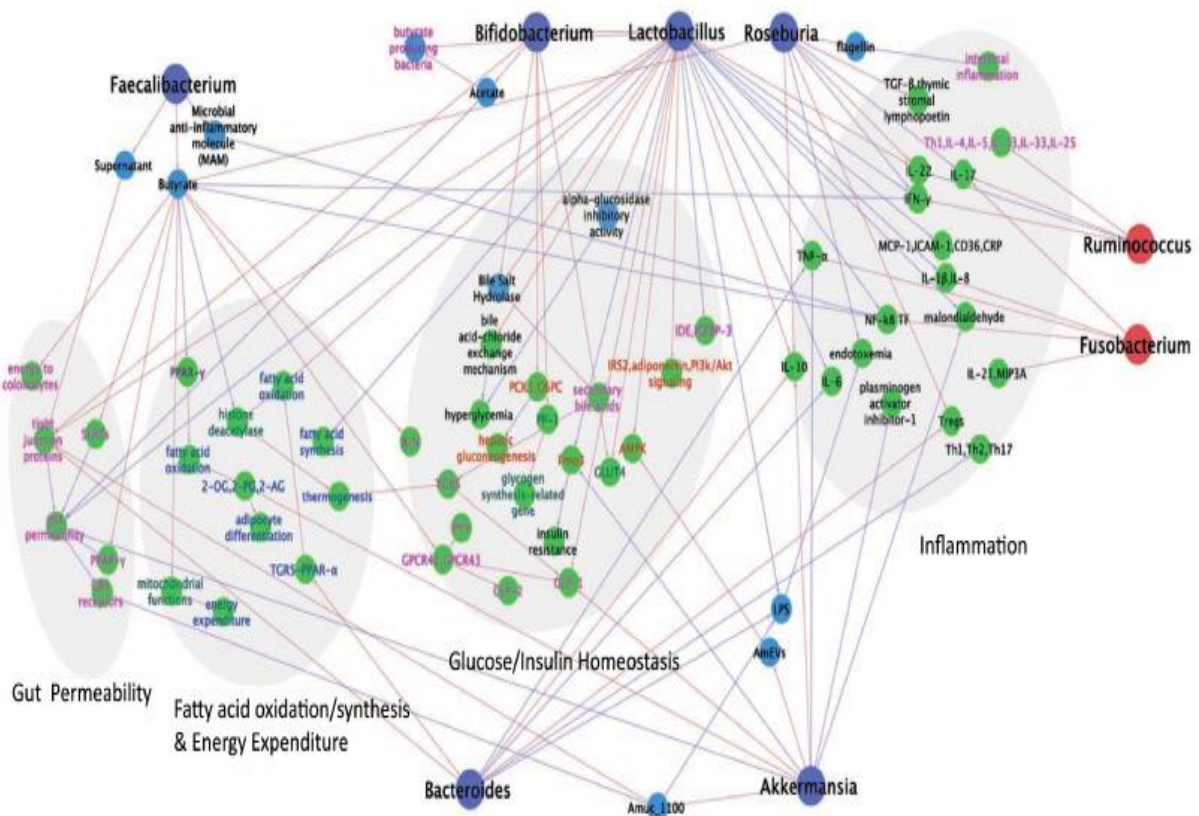
πραγματοποιηθεί σε ζωικά μοντέλα. Οι δεξαμενές χολικών οξέων παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στη σύνθεση μεταξύ ανθρώπων και τρωκτικών, γι' αυτό τα συμπεράσματα που προέρχονται από μελέτες τρωκτικών πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή .

3.4. Πιθανοί μηχανισμοί των επιδράσεων του μικροβιώματος στο μεταβολισμό ασθενών με ΣΔ2

Ο ΣΔ2 αναπτύσσεται όταν συστηματικά το πάγκρεας αναγκάζεται να παράγει συνεχώς αυξανόμενες ποσότητες ινσουλίνης για να επιτευχθεί η μεταγευματική κάθαρση γλυκόζης, φθάνοντας σε σημείο τόσο χαμηλής ανταπόκρισης στην ινσουλίνη από τους περιφερικούς ιστούς (αντοχή στην ινσουλίνη), που δεν μπορεί πλέον να επιτευχθεί νορμογλυκαιμία [97]. Πολλοί παράγοντες, όπως η παχυσαρκία, ο καθιστικός τρόπος ζωής, η γενετική, η διατροφή και άλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες, και πρόσφατα, το εντερικό μικροβίωμα, φαίνεται να επηρεάζουν την εμφάνιση και την εξέλιξη της νόσου [97]. Η ινσουλίνη μεταγευματικά, διεγείρει τα κύτταρα προς πρόσληψη γλυκόζης, δεσμεύοντας τον υποδοχέα ινσουλίνης στην κυτταρική μεμβράνη. Με αυτό τον τρόπο ξεκινάει ένας καταρράκτης σηματοδότησης που κανονικά οδηγεί στη μετατόπιση του μεταφορέα γλυκόζης τύπου 4 (GLUT4) στην κυτταρική μεμβράνη, αρχίζοντας έτσι την κάθαρση της γλυκόζης, καθώς ο GLUT4 μεταφέρει την τελευταία στο εσωτερικό του κυττάρου, μειώνοντας έτσι τη συγκέντρωσή της. Μόλις εισέλθει στο κύτταρο, η γλυκόζη είτε χρησιμοποιείται για την παραγωγή ενέργειας είτε αποθηκεύεται με τη μορφή γλυκογόνου εντός συγκεκριμένων κυττάρων (ηπατοκύτταρα και μυϊκά κύτταρα).

Συγκεκριμένα, εάν δεν υπάρχει ινσουλίνη, δεν υπάρχει αποτελεσματικός εναλλακτικός μηχανισμός για την κάθαρση γλυκόζης, με αποτέλεσμα την υπεργλυκαιμία [97].

Το εντερικό μικροβίωμα ρυθμίζει τη φλεγμονή, αλληλεπιδρά με τα διατροφικά συστατικά, επηρεάζει τη διαπερατότητα του εντέρου, τον μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων, την ευαισθησία στην ινσουλίνη και τη συνολική ενεργειακή ομοιόσταση του ξενιστή (εικόνα 8).



Color of labels in the node represents different organs where microbiota potentially elicit its effect: adipose tissue, gut, liver, liver&adipose tissue, muscle, systemic
 Color of nodes: ● host features/products; ● microbial products; ● microbe positively associated with disease, ● microbe negatively associated with disease
 Color of edge: blue, negative association between nodes, red, positive association between nodes

Εικόνα 8. Ανάλυση, με βάση τη διεθνή βιβλιογραφία, των πιθανών επιδράσεων στο μεταβολισμό, των βακτηριδίων που σταθερά ανευρίσκονται στο μικροβίωμα ασθενών με ΣΔ2 [98]

- Φλεγμονή

Δεν υπάρχει σαφής, άμεση, γνωστή οδός μέσω της οποίας η φλεγμονή να σχετίζεται με το ΣΔ2, αλλά υπάρχουν αυξανόμενα δεδομένα που υποστηρίζουν μια συσχέτιση μεταξύ της φλεγμονής και του αυξημένου κινδύνου για ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη, η οποία με τη σειρά της οδηγεί στο ΣΔ2. Τα άτομα στην προ-διαβητική κατάσταση, αντισταθμίζουν την αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη με την υπερέκκριση ινσουλίνης από τα παγκρεατικά β-κύτταρα [125]. Καθώς η ασθένεια εξελίσσεται, τα β-κύτταρα σταδιακά γίνονται λιγότερο ικανά να παρέχουν την απαραίτητη ποσότητα ινσουλίνης, βαθμιαία εξαντλούνται και τελικά πεθαίνουν. Σε αυτό το πλαίσιο, διερευνάται η αποδιαφοροποίηση των β-κυττάρων ως μέσο αποτυχίας των β-κυττάρων στο ΣΔ2 [126], αλλά αυτή η οδός δεν είναι επιβεβαιωμένη. Αντίθετα, οι αντιφλεγμονώδεις δίαιτες φαίνεται να συμβάλλουν στη μείωση του κινδύνου ανάπτυξης ΣΔ2 [127]. Πολλές φλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως IL-1, IL-6, NF-κΒ και TNF-α, έχουν επίσης συνδεθεί με την παχυσαρκία. Ειδικότερα, η βιοσύνθεση της IL-6 λειτουργεί ως προφλεγμονώδης κατάσταση. Συγκεκριμένα, αμέσως μετά την έκκρισή της, μετακινείται στο ήπαρ, προκαλώντας την ταχεία πρωτεϊνική σύνθεση της C αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP), η οποία θα αναλυθεί περαιτέρω. Η IL-1 παρεμποδίζει τις λειτουργίες του β-κυττάρου προκαλώντας την καταστροφή του και μειώνοντας επομένως τον συνολικό πληθυσμό των β-κυττάρων στη διάρκεια του χρόνου, κάτι που παρατηρείται κατά την εξέλιξη του ΣΔ2 στα τελευταία στάδια της νόσου. Υψηλότερα επίπεδα IL-1 παρατηρούνται επίσης συχνά και σε παχύσαρκα άτομα. Οι TNF-α, IL-6, IL-1, ανήκουν σε ένα υποσύνολο κυτοκινών, τις αδιποκίνες, οι οποίες εκκρίνονται από τον λιπώδη ιστό και μπορούν να λειτουργήσουν ως προ-φλεγμονώδη σηματοδοτικά μόρια. Ως αποτέλεσμα, η δυσλειτουργία τους έχει συνδεθεί με την ανάπτυξη παχυσαρκίας και ΣΔ2. Σε παχύσαρκα άτομα, σταθερά παρατηρείται, ότι η έκφραση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών ακολουθείται συνήθως από ανάπτυξη αντίστασης

στην ινσουλίνη [128], καθιστώντας έτσι τις κυτοκίνες ένα σημαντικό πεδίο έρευνας όταν εξετάζεται ο κίνδυνος, η εκδήλωση και η εξέλιξη του ΣΔ2. Με βάση αυτή την προσέγγιση, το μικροβίωμα του εντέρου και η φλεγμονή ήταν στο επίκεντρο της μελέτης κατά την αναζήτηση αιτιών και θεραπειών για την παχυσαρκία και το ΣΔ2.

Σε μία μελέτη του Bornstein *et al.*, πέντε άτομα με ΣΔ2 και ένα παχύσαρκο άτομο που είχαν υποβληθεί σε επέμβαση γαστρικού bypass (Roux-en-Y gastric bypass, RYGB), μελετήθηκαν για τις αλλαγές στο εντερικό μικροβίωμα ως αποτέλεσμα του RYGB και για το πως οι παρατηρούμενες μεταβολές επηρέαζαν τη διαχείριση της νόσου [129]. Οι ερευνητές έδειξαν ότι η RYGB οδήγησε σε μείωση τόσο των Firmicutes όσο και των Bacteroidetes, και σε μια ταυτόχρονη αύξηση των Proteobacteria. Είναι σημαντικό να σημειωθεί, ότι ενώ μειώθηκε ο πληθυσμός των Bacteroidetes, εξακολουθούσε να υπάρχει σε υψηλότερες ποσότητες από ό, τι αυτός των Firmicutes και επομένως ο ιδανικός λόγος B/F πλησίαζε περισσότερο τον επιθυμητό μετά την επέμβαση, υποδηλώνοντας μια ευνοϊκή επίδραση της χειρουργικής επέμβασης RYGB [97]. Η RYGB και η μεταγενέστερη αλλαγή μικροβιώματος, παρατηρήθηκε επίσης όταν εξετάστηκε η συσχέτιση με την κατάσταση φλεγμονής. Από τα 22 είδη που ανιχνεύθηκαν, 9 συσχετίστηκαν σημαντικά με την C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, έναν βιοδείκτη συστηματικής φλεγμονής που συνήθως μετρείται στον ορό του αίματος για να εκτιμηθεί η φλεγμονώδης κατάσταση. Δεδομένου ότι 9 βακτηριακά είδη κατέδειξαν σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα CRP στο αίμα, υποδείχθηκε ότι το μικροβίωμα του εντέρου σχετίζεται στενά με την φλεγμονώδη κατάσταση. Επιπλέον, παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση της φλεγμονώδους κατάστασης, όπως αυτή εκτιμήθηκε με τα επίπεδα της CRP, με το δείκτη μάζας σώματος (Body Mass Index, BMI), υποδηλώνοντας ότι ένας χαμηλότερος BMI σχετίζεται με μικρότερο βαθμό φλεγμονής [126]. Αυτή η παρατήρηση συμβαδίζει με την υπόθεση ότι η παχυσαρκία, λόγω της

αυξημένης έκκρισης κυτοκινών, προκαλεί μια χρόνια ήπια προ-φλεγμονώδη κατάσταση.

Σε μια μελέτη που διερεύνησε την επίδραση της HFD στους δείκτες φλεγμονής, τόσο τα CONV όσο και τα GF ποντίκια, έλαβαν είτε HFD είτε δίαιτα ελέγχου για 16 εβδομάδες [130]. Ο βαθμός εντερική φλεγμονής αξιολογήθηκε καταγράφοντας τα επίπεδα mRNA του TNF-α και την ενεργοποίηση του γονιδίου αναφοράς του NF-κB. Τόσο ο TNF-α όσο και ο NF-κB είναι σημαντικοί στην ενεργοποίηση και τη συντήρηση των φλεγμονωδών αποκρίσεων [130]. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα ποντίκια CONV στην ομάδα της HFD είχαν αύξηση βάρους και αυξημένα επίπεδα mRNA TNF-α, χωρίς αυτά να παρατηρούνται στα GF ποντίκια. Η επαγωγή mRNA του TNF-α προηγήθηκε της εμφάνισης παχυσαρκίας σε αυτά τα ζώα. Το ίδιο μοτίβο παρατηρήθηκε επίσης και στην ενεργοποίηση του NF-κB, η οποία έλαβε χώρα σε επιθηλιακά κύτταρα, ανοσοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα στους CONV ποντικούς. Επιπλέον, όταν πολτός κοπράνων προερχόμενος από τα HFD/CONV ποντίκια χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό GF ποντικών, παρατηρήθηκε ότι αυτός ο trans-εμβολιασμός ήταν επαρκής για να ενεργοποιήσει τον NF-κB σε GF ποντικούς [130]. Αυτά τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν και πάλι τη σημασία του εντερικού μικροβιώματος στην φλεγμονώδη αππόκριση, υποδηλώνοντας ότι η ενεργοποίηση της τελευταίας μπορεί να γίνει με τη μεσολάβηση του μικροβιώματος.

➤ Αντίσταση στην ινσουλίνη

Ενώ η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι μια μεταβολική κατάσταση που συνήθως τελικά οδηγεί σε ΣΔ2, το εντερικό μικροβίωμα φαίνεται να έχει σημαντική επίδραση στην πορεία των γεγονότων και στην διαμόρφωση του τελικού κινδύνου από το ΣΔ2. Η

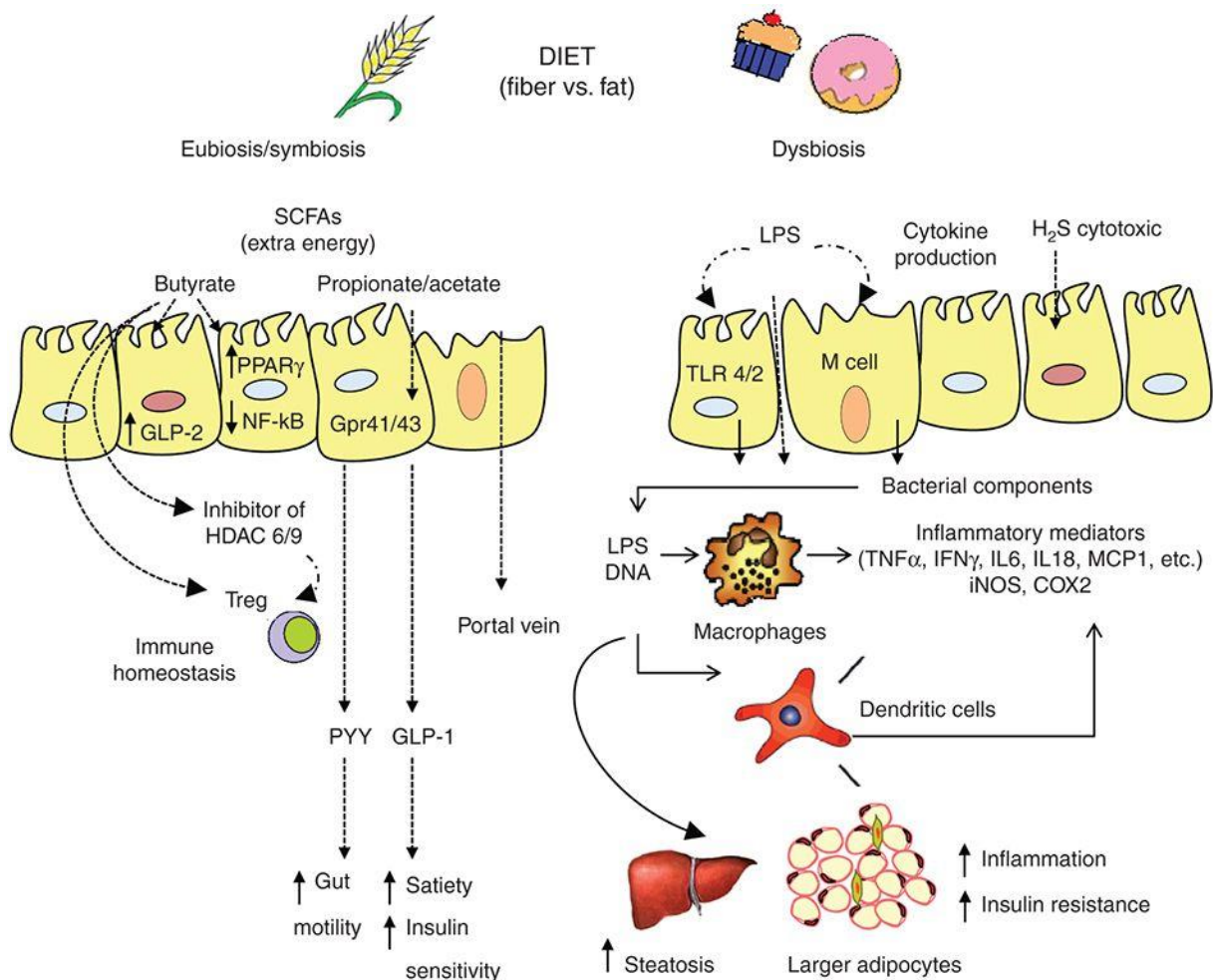
εργασία των Nieuwdorp *et al.*, διερεύνησε τις επιπτώσεις της «μεταμόσχευσης» μικροβιώματος σε άνδρες με μεταβολικό σύνδρομο, που ορίζεται ως "ένα σύνολο συνθηκών που συμβαίνουν ταυτόχρονα ... συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης αρτηριακής πίεσης, της υψηλής τιμής γλυκόζης νηστείας ορού, της κεντρικού τύπου παχυσαρκίας και των παθολογικών επιπέδων χοληστερόλης HDL ή τριγλυκεριδίων" [97]. Τα εντερικά μικροβιώματα από δότες με φυσιολογικό BMI, μεταφέρθηκαν σε δέκτες που είχαν μεταβολικό σύνδρομο ενώ μετά τη μεταφορά παρακολουθήθηκαν το μεταμοσχευμένο μικροβίωμα και ο μεταβολισμός της γλυκόζης. Έξι εβδομάδες μετά την μεταφορά, η ευαισθησία στην ινσουλίνη των δεκτών σχεδόν διπλασιάστηκε, υποδηλώνοντας σημαντική βελτίωση του μεταβολικού συνδρόμου, ενώ ο πληθυσμός των μικροβίων που παράγουν βουτυρικό οξύ αυξήθηκε επίσης σημαντικά [131].

Επιπλέον, σε μια πρόσφατη μελέτη, πραγματοποιήθηκε ανάλυση εντερικού μικροβιώματος 291 μη διαβητικών κατοίκων της Δανίας, με τα αποτελέσματα να συγκρίνονται με αυτά 75 ατόμων με ΣΔ2 [132]. Μετά την ανάλυση, τα επίπεδα αντοχής στην ινσουλίνη και τα επίπεδα μεταβολιτών που σχετίζονται με το μεταβολικό σύνδρομο, ερευνήθηκαν και συγκρίθηκαν μεταξύ των δύο ομάδων. Η σύνθεση του μικροβιώματος των δύο ομάδων ταξινομήθηκε με βάση την παραγωγή των μεταβολιτών, όπου διαπιστώθηκε ότι 19 από τις 74 τάξεις συσχετίστηκαν σημαντικά με την αντίσταση στην ινσουλίνη και το μεταβολικό σύνδρομο. Οι συγκεκριμένες ομάδες μεταβολιτών εμφάνιζαν σταθερά συσχετίσεις και στα 291 άτομα ενώ επιβεβαιώθηκαν και στους ασθενείς με ΣΔ2 [132]. Αυτό υποδηλώνει ότι ορισμένοι μεταβολίτες, που παράγονται από συγκεκριμένα μικροβιακά στελέχη, φαίνεται πως συμβάλλουν στην ανάπτυξη αντοχής στην ινσουλίνη.

Η μεφορμίνη είναι μία συνήθως συνταγογραφούμενη φαρμακευτική ουσία για τη θεραπεία του ΣΔ2, η οποία λειτουργεί μέσω καταστολής της παραγόμενης γλυκόζης

και αύξησης της ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Μία επιπλέον μελέτη, που είχε σα σκοπό την αξιολόγηση των επιδράσεων της μετορμίνης στη μεταβολισμό και στο μικροβίωμα, αξιολόγησε ποντίκια σε διατροφή HFD. Οι ποντικοί τράφηκαν: (i) με HFD, (ii) με HFD που στη συνέχεια μετατράπηκε σε φυσιολογική δίαιτα, ή (iii) HFD με συγχορήγηση μετορμίνης. Αυτά τα διαιτητικά πρότυπα χορηγήθηκαν ώστε να προκαλέσουν παχυσαρκία. Ως εκ τούτου η παχυσαρκία ήταν ένας κύριος στόχος της μελέτης, και όχι η ανάπτυξη του ΣΔ2. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά τη χορήγηση μετορμίνης στους ποντικούς HFD, ο αριθμός των Bacteroidetes του μικροβιώματος αυξήθηκε σημαντικά από 43% στην ομάδα HFD σε 77% στην ομάδα HFD-μετορμίνη. Επιπρόσθετα, 18 μεταβολικά μονοπάτια εμφάνισαν ανοδική ρύθμιση ως αποτέλεσμα της χορήγησης μετορμίνης [133]. Είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον το γεγονός, ότι ενώ η μετορμίνη χορηγείται κυρίως για την αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, φαίνεται επίσης να έχει θετική επίδραση και στο εντερικό μικροβίωμα. Δεν μπορεί να αποκλειστεί ότι ένας από τους πιθανούς μηχανισμούς μέσω των οποίων βελτιώνεται η ευαισθησία στην ινσουλίνη κατά τη χορήγηση μετορμίνης, να προκαλείται μέσω των μεταβολών που προκαλεί η μετορμίνη στο μικροβίωμα.

Ενώ η άμεση συσχέτιση του μικροβιώματος με την αντίσταση στην ινσουλίνη δεν είναι ξεκάθαρη, είναι προφανές ότι το μικροβίωμα παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση αυτής της παθολογίας. Τα ανωτέρω δεδομένα παρέχουν μια βάση για την κατανόηση αυτής της συσχέτισης, αν και απαιτείται περισσότερη έρευνα στο πεδίο αυτό, ώστε να αποσαφηνιστούν τα μεταβολικά μονοπάτια που καθορίζουν τον τρόπο με τον οποίο η μετορμίνη επηρεάζει το μικροβίωμα οδηγώντας σε μεγαλύτερη ευαισθησία στην ινσουλίνη (εικόνα 9).



Εικόνα 9. Κύριοι μηχανισμοί δράσης του μικροβιώματος και των μεταβολιτών που προέρχονται από την παχυσαρκία και των συναφών μεταβολικών δυσλειτουργιών (αντίσταση στην ινσουλίνη και διαβήτης τύπου 2). Το εντερικό μικροβίωμα συμβάλλει στην υδρόλυση του συμπλόκου πολυσακχαριτών από διαιτητικές ίνες, και ως εκ τούτου θα μπορούσε να συμβάλει στην αύξηση της εξοικονόμησης της ενέργειας και να παράγει λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας (SCFAs: Οξικό προπιονικό και βουτυρικό οξύ) που επηρεάζουν τον μεταβολισμό του ξενιστή με διάφορους τρόπους. Τα SCFAs μπορούν να ενεργοποιήσουν τον συζευγμένο με G πρωτεΐνη υποδοχέα (Gpr) 41 που επάγει την έκφραση του πεπτιδίου YY, μια εντερική ορμόνη που επηρεάζει την κινητικότητα του εντέρου, αυξάνει τον ρυθμό της εντερικής διέλευσης και μειώνει την εξοικονόμηση ενέργειας από τη διαίτα. Τα SCFAs μπορούν επίσης να ενεργοποιήσουν Gpr43 και Gpr41 που προκαλούν έκκριση πεπτιδίου-1 (GLP-1) τύπου γλυκαγόνου, αυξάνοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη και προκαλώντας κορεσμό. Το βουτυρικό οξύ παρέχει ενέργεια σε εντεροκύτταρα, ασκώντας επίδραση στην τροφή και προκαλώντας τη σύνθεση του GLP-2, ενισχύοντας έτσι τη λειτουργία του φραγμού του εντέρου. Το βουτυρικό οξύ μπορεί επίσης να προάγει το σχηματισμό των περιφερικών ρυθμιστικών T κυττάρων (Treg) από την ικανότητά του να αναστέλλει την αποακετυλίωση ιστονών 6 και 9 που οδηγεί σε ακετυλίωση της ιστόνης H3, η οποία προωθεί την έκφραση του Treg-ειδικού forkhead παράγοντα μεταγραφής FoxP3. Η εντερική δυσβίωση, η οποία θα μπορούσε να προκαλείται εν μέρει από «παχυσαρκογενές» δίαιτες που είναι πλούσιες σε κορεσμένα λίπη, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη των δυνητικών παθογόνων (Gram-αρνητικά βακτήρια και παράγωγα λιποπολυσακχαρίτη (LPS)) με προφλεγμονώδεις επιδράσεις μέσω δημιουργίας κυτταροτοξικών ενώσεων (H₂S) ή στην αλληλεπίδραση με υποδοχείς του έμφυτου ανοσοποιητικού (TLR4, TLR2) συμβάλλοντας στην παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών, στην προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων και στην μετατόπιση των βακτηριακών

προϊόντων (LPS, DNA) από διακυτταρικές και παρακυτταρικές οδούς που ενεργοποιούν τη φλεγμονή σε περιφερικούς ιστούς. NF, πυρηνικός παράγοντας [134]

➤ Διαπερατότητα του εντέρου

Η αυξημένη διαπερατότητα του εντέρου είναι κοινό χαρακτηριστικό των ασθενών με ΣΔ2. Συνεπάγεται μετατόπιση προϊόντων του εντερικού μικροβιώματος στη συστηματική κυκλοφορία και επακόλουθη μεταβολική ενδοτοξαιμία. Δύο είδη (*Bacteroides vulgatus* και *B. Dorei*) από τα δυνητικά ευεργετικά γένη βακτηρίων για το ΣΔ2, έχουν βρεθεί ότι ρυθμίζουν εκ των προτέρων την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με μείωση της διαπερατότητας του εντέρου, μείωση της παραγωγής LPS και βελτίωση της ενδοτοξαιμίας σε ποντικούς. Ένα άλλο προβιοτικό βακτήριο, το *Akkermansia muciniphila*, μείωσε τη διαπερατότητα του εντέρου χρησιμοποιώντας εξωκυττάρια κυστίδια. Η πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης (*Amuc_1100*) αυτού του βακτηρίου φαίνεται να ενισχύει την έκφραση της πρωτεΐνης-1 (*Tjp-1*) που βελτιώνει την ακεραιότητα του εντέρου. Η *Amuc_1100* αναστέλλει επίσης τον κανναβινοειδή υποδοχέα τύπου 1 (CB1) στο έντερο, ο οποίος με τη σειρά του μειώνει τη διαπερατότητα του εντέρου καθώς και τα επίπεδα LPS [98]. Επιπροσθέτως το βακτήριο *Faecalibacterium prausnitzii*, φαίνεται να ενισχύει την έκφραση πρωτεϊνών σύνδεσης, βελτιώνοντας έτσι τις λειτουργίες του εντερικού φραγμού σε μοντέλο κολίτιδας [98]. Τέλος, το βουτυρικό άλας, που παράγεται από το *Faecalibacterium*, *Roseburia*, έχει επίσης τη δυνατότητα να μειώσει τη διαπερατότητα του εντέρου μέσω των μεταφορέων σεροτονίνης και των μονοπατιών PPAR-γ [98].

➤ Οξειδωτικό στρες

Το ανθρώπινο σώμα σε φυσιολογικές συνθήκες παράγει ελεύθερες ρίζες όταν εκτίθεται σε εξωτερικούς παράγοντες, όπως τα τρόφιμα, το αλκοόλ και οι ατμοσφαιρικοί ρύποι. Οι ενεργές μορφές οξυγόνου (Reactive oxygen species, ROS) αποτελούν προϊόντα μεταβολισμού που μεταφέρουν μη συζευγμένα ηλεκτρόνια, προκαλώντας οξειδωση του κυτταρικού μηχανισμού [125]. Σε ένα υγιές άτομο, τα αντιοξειδωτικά, σε μεγάλο βαθμό, αντιμετωπίζουν αυτή τη διαδικασία, εξουδετερώνοντας τις ROS, και επομένως υπερασπίζονται την ομοιοστασία του σώματος [135]. Η έλλειψη ισορροπίας, λόγω της αναποτελεσματικής αντιοξειδωτικής άμυνας, έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή οξειδωτικού στρες, το οποίο σχετίζεται στενά με το φαινόμενο της γλυκοζυλίωσης και την εμφάνιση ΣΔ2 [136]. Ο καθιστικός τρόπος ζωής και η δυτικού τύπου διατροφή έχουν συσχετιστεί με υπερβολική κατανάλωση γλυκόζης και κορεσμένων λιπαρών οξέων, με αποτέλεσμα την υπερβολική παραγωγή ROS. Η γλυκόζη επίσης αντιδρά με τις πρωτεΐνες του πλάσματος παράγοντας και αυτή ROS [136]. Το οξειδωτικό στρες προάγει την ανάπτυξη φλεγμονής, η οποία με τη σειρά της αυξάνει τον κίνδυνο για το ΣΔ2 μεταξύ άλλων νοσολογικών οντοτήτων.

Σε μία πρόσφατη μελέτη έγινε προσπάθεια διερεύνησης της σχέσης μεταξύ μικροβιώματος και οξειδωτικού στρες, μέσω παρατήρησης ποντικών σε δίαιτα HFD [137]. Οι ποντικοί είτε τράφηκαν με HFD είτε με HFD με συμπλήρωμα λιποϊκού οξέος, το οποίο είναι γνωστό ότι μειώνει το οξειδωτικό στρες [138]. Οι παραγόμενες ROS, η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα, καθώς και το εντερικό μικροβίωμα, αξιολογήθηκαν σε όλα τα ποντίκια της μελέτης. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι στους ποντικούς που έλαβαν συμπλήρωμα με λιποϊκό οξύ, ο πληθυσμός των γαλακτοβακίλλων ήταν σημαντικά μικρότερος σε σχέση με την ομάδα ποντικών χωρίς συμπλήρωμα λιποϊκού οξέος. Αυτό αποτελεί ένα σημαντικό αποτέλεσμα, καθώς οι γαλακτοβακίλλοι είναι μέλη του φύλου Firmicutes. Ο χαμηλός αριθμός γαλακτοβακίλλων συσχετίστηκε με την

παρουσία μειωμένου οξειδωτικού στρες και επίπεδα ROS. Τα συγκεκριμένα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα αντιοξειδωτικά μπορούν να βελτιώσουν το προφίλ του μικροβιώματος και ακολούθως το οξειδωτικό στρες, περιορίζοντας έτσι τον κίνδυνο για ανάπτυξη χρόνιων παθήσεων όπως ο ΣΔ2 [97].

Ενώ η συσχέτιση μεταξύ του μικροβιώματος και του ΣΔ2 φαίνεται να είναι ισχυρή, υπάρχουν αρκετές πτυχές του μικροβιώματος που επηρεάζουν την εξέλιξη της νόσου. Πιο συγκεκριμένα, έχει αρχίσει η αξιολόγηση του εντερικού μικροβιώματος ασθενών με ΣΔ2, σε μια προσπάθεια αναζήτησης νέων θεραπειών. Έχει αποδειχθεί ότι η μικροβιακή σύνθεση του μικροβιώματος των ασθενών με ΣΔ2 είναι αρκετά διαφορετική σε σύγκριση με τα άτομα που δεν έχουν ΣΔ2. Η σημασία της διατροφής σε συνδυασμό με την κατάσταση της νόσου, είναι κρίσιμη για την ταυτοποίηση του μικροβιώματος. Ως εκ τούτου, ο τρόπος ζωής και το διατροφικό προφίλ του εκάστοτε ατόμου, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την αξιολόγηση του μικροβιώματός του, σε συνδυασμό φυσικά με την κατάσταση της νόσου και την ακολουθούμενη φαρμακευτική αγωγή. Σε μια μελέτη του 2010, μια ομάδα 36 ανδρών, οι μισοί από τους οποίους είχαν ΣΔ2, με ευρύ φάσμα BMI, υποβλήθηκαν σε ανάλυση εντερικού μικροβιώματος [137]. Η βακτηριακή σύνθεση αναλύθηκε χρησιμοποιώντας 16S rRNA αλληλούχηση και ανέδειξε ότι οι διαβητικοί ασθενείς είχαν σημαντικά λιγότερα βακτήρια του φύλου Firmicutes και πιο συγκεκριμένα της κατηγορίας Clostridia, από τους μη διαβητικούς ομολόγους τους. Επιπροσθέτως, οι ασθενείς με ΣΔ2 εμφάνισαν υψηλότερο λόγο B / F (Bacteroidetes / Firmicutes) [137]. Αυτά τα αποτελέσματα συνολικά μπορεί να προκαλούν έκπληξη με την πρώτη ανάγνωση, καθώς η βιβλιογραφία υποστηρίζει αντίθετα αποτελέσματα. Ωστόσο, ο τρόπος ζωής και η διατροφή δε συνυπολογίστηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη μελέτη. Τυπικά, οι ασθενείς με ΣΔ2 πρέπει να ακολουθούν μια αυστηρή δίαιτα, χαμηλή σε απλούς υδατάνθρακες και προϊόντα ζάχαρης, πλούσια

σε σύνθετους υδατάνθρακες και τρόφιμα χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη. Αντίθετα, τα μη διαβητικά άτομα συνήθως δεν ακολουθούν τόσο αυστηρό διατροφικό προφίλ. Η βελτιωμένη αναλογία B / F και ο συνολικά χαμηλότερος αριθμός Firmicutes, μπορούν να αποδοθούν στις διαφορές στο διαιτολόγιο που ακολουθούν οι ασθενείς με ΣΔ2, καθώς και στην επίδραση της φαρμακευτικής αγωγής.

Συνολικά, τα μέχρι σήμερα διαθέσιμα δεδομένα υπογραμμίζουν μια σαφή συσχέτιση μεταξύ του μικροβιώματος και της εμφάνισης χρόνιων παθήσεων, συμπεριλαμβανομένου του ΣΔ2. Περαιτέρω έρευνα που θα θέτει το μικροβίωμα σαν ένα πιθανό θεραπευτικό στόχο σε ασθενείς με χρόνιες νόσους, και ιδιαίτερα με ΣΔ2, θεωρείται απαραίτητη.

➤ Συνδυασμένες επιδράσεις των βακτηρίων

Εκτός από τους προαναφερθέντες μηχανισμούς, μερικά μικρόβια μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη φυσιολογία του ξενιστή μέσω αύξησης άλλων πιθανά ωφέλιμων βακτηρίων ή μέσω διασταυρούμενης αντίδρασης. Συγκεκριμένα, διάφορα είδη του γένους *Bifidobacterium* έδειξαν διασταυρούμενη αλληλεπίδραση με άλλα γένη όπως το *Faecalibacterium* και το *Roseburia* [98]. Το είδος *Lactobacillus rhamnosus* αύξησε την αφθονία του γένους *Bifidobacterium* σε ποντίκια, ενώ το *L. casei* έχει βρεθεί ότι αυξάνει τα βακτηρίδια που παράγουν βουτυρικό [98].

3.5. Συμβολή του μικροβιώματος στην επιτυχία της φαρμακευτικής θεραπείας για ασθενείς με ΣΔ2

Η αλληλεπίδραση των φαρμάκων και του εντερικού μικροβιώματος λαμβάνει συνεχώς αυξανόμενες διαστάσεις στο ερευνητικό πεδίο. Είναι γνωστό ότι τα αντιβιοτικά, τα μη αντιβιοτικά φάρμακα και τα αντιδιαβητικά φάρμακα (πίνακας 1) μπορούν να τροποποιήσουν το μικροβίωμα και να βελτιώσουν τη νόσο. Ομοίως, το εντερικό μικροβίωμα μπορεί να επηρεάσει θετικά ή αρνητικά την φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική πολυάριθμων φαρμακευτικών ουσιών μέσω μιας ποικιλίας μηχανισμών [98]. Λιγότερες μελέτες, ωστόσο, έχουν εξετάσει τον τρόπο με τον οποίο η μεταβολή του μικροβιώματος του εντέρου (μέσω προ- και / ή πρεβιοτικών) μεταβάλλει τη δραστηριότητα των αντιδιαβητικών φαρμάκων.

Πίνακας 1. Συμβολή του μικροβιώματος στην επιτυχία της θεραπείας του ΣΔ2 [98]

Anti-diabetic Drug	Effects on Microbiota	
	Promotes	Reduces
Biguanides (Metformin)	<i>Akkermansia muciniphila</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Butyrivibrio</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Megasphaera</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Escherichi-Shigella</i> , <i>Erysipelotrichaceae incertate sedis</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Flavonifractor</i> , <i>Lachnospiraceae</i> , <i>Lachnospiraceae incertae sedis</i> and <i>Clostridium XVIII and IV</i>	<i>Intestinibacter</i> , <i>Romboutsia</i> , <i>Peptostreptococcaceae_unclassified</i> , <i>Clostridiaceae_1_unclassified</i> , <i>Asaccharospora</i> , <i>Alistipes</i> , <i>Oscillibacter</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Parabacteroides</i> , <i>un-Ruminococcaceae</i>

Alpha-glucosidase Inhibitors (eg. Acarbose, voglibose, miglitol)	Lactobacillus, Faecalibacterium, Dialister, Subdoligranulum, Allisonella, <i>Megasphaera</i> , Bifidobacterium, Enterococcus, faecalis	<i>Butyricoccus</i> , <i>Phascolarctobacterium</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Eggerthella</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Oribacterium</i> , <i>Erysipelotrichaceae</i> , <i>Coriobacteriaceae</i> , <i>Bacteroides</i>
GLP-1 Receptor agonist (eg. Liraglutide)	<i>Akkermansia muciniphila</i> , <i>Bacteroides acidifaciens</i> , <i>Lachnoclostridium</i> , <i>Flavonifractor</i> , <i>Ruminococcus_gnavus</i> , <i>Allobaculum</i> , <i>Turicibacter</i> , <i>Anaerostipes</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Butyricimonas</i> , <i>Desulfovibrio</i>	<i>Helicobacter</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Ruminococcaceae</i> , <i>Christensenellaceae</i> , <i>Roseburia</i> , <i>Candidatus Arthromitus</i> , <i>Marvinbryantia</i> , <i>Incertae Sedis</i>
Thiazolidinediones (Pioglitazone)		Proteobacteria
DPP-4 Inhibitors (Vildagliptin, sitagliptin, saxagliptin)	Lactobacillus, <i>Streptococcus</i> , <i>Bacteroides acidifaciens</i> , <i>Streptococcus hyointestinalis</i> , <i>Erysipelotrichaceae</i> , <i>Allobaculum</i> , <i>Turicibacter</i> , <i>Roseburia</i>	<i>Oscillibacter</i> , <i>Ruminiclostridium_6</i> , <i>Anaerotruncus</i> , <i>Kurthia</i> , <i>Christensenellaceae</i> , <i>Prevotellaceae</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Blautia</i> ,
SGLT2 Inhibitors (eg. Dapagliflozin)	<i>Akkermansia</i> , Enterococcus	<i>Oscillospira</i>

Μια πρόσφατη μελέτη εξέτασε τα αποτελέσματα συγχορήγησης του προβιοτικού *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* 420, του πρεβιοτικού polydextrose και του συνδυασμού τους με την χορήγηση σιταγλιπτίνης σε ποντικούς με ΣΔ2 [98]. Ο συνδυασμός σιταγλιπτίνης με προ- και πρεβιοτικά ήταν αποτελεσματικός στη μείωση αρκετών παραμέτρων της νόσου. Σε μια παρόμοια μελέτη με αρουραίους Zucker με ΣΔ2, παρατηρήθηκε ότι ο συνδυασμός ενός πρεβιοτικού πολυσακχαρίτη με μετφορμίνη και σιταγλιπτίνη, μείωσε την υπεργλυκαιμία και βελτίωσε το λιπιδαιμικό προφίλ σε σύγκριση με τη χρήση μόνο των φαρμάκων [98]. Σε άλλη μελέτη, ποντίκια με ΣΔ2 υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ένα συνδυασμό πρεβιοτικού και μετφορμίνης ή

μονοθεραπείας με πρεβιοτικό ή μετφορμίνη. Η συνδυαστική θεραπεία φάνηκε να οδηγεί σε βελτίωση των επιπέδων γλυκόζης νηστείας, αντοχής στη γλυκόζη και αντίστασης στην ινσουλίνη, σε σύγκριση με τις μονοθεραπείες [98]. Περαιτέρω μελέτες σε ανθρώπους, πάνω στις συγκεκριμένες αλληλεπιδράσεις κρίνονται απαραίτητες στο μέλλον.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Είναι προφανές ότι το εντερικό μικροβίωμα είναι συνδεδεμένο με την εμφάνιση παχυσαρκίας και κατ' επέκταση με την ανάπτυξη ΣΔ2. Ως εκ τούτου, αναδεικνύεται ως ένας σημαντικός στόχος για την πρόληψη και τη θεραπεία των συγκεκριμένων ασθενών.

Οι δίαιτες που είναι ιδιαίτερα διαδεδομένες τα τελευταία χρόνια όπως οι κετογονικές δίαιτες, οι αποτοξινωτικές δίαιτες με χυμούς, η δίαιτα τύπου Atkins, υποστηρίζουν την άμεση και πολλές φορές επιβλαβή για την υγεία, απώλεια βάρους. Πρόσφατα, έχει ξεκινήσει μία νέα διατροφική προσέγγιση η "Διατροφή Μικροβιώματος (Microbiome Diet, MD)", από τον Dr Raphael Kellman, η οποία αποκτά ολοένα και περισσότερο έδαφος. Η MD έχει σαν κύριους στόχους την αποκατάσταση της υγείας του εντέρου (προάγοντας την ευβίωση), την αύξηση του μεταβολικού ρυθμού και τη μείωση της φλεγμονής. Αποτελείται από μέρη, ενώ ο κύριος άξονας της είναι η όσο το δυνατό μικρότερη κατανάλωση επεξεργασμένων τροφίμων και περισσότερων ειδών πλούσιων σε πρεβιοτικά [97].

Τα προβιοτικά είναι επίσης ιδιαίτερα διαδεδομένα τα τελευταία χρόνια, με έμφαση στις επιπτώσεις τους στο εντερικό μικροβίωμα. Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε από το Κέντρο Καρδιακής Φροντίδας του Cambridge, στο Οντάριο του Καναδά, διερευνήθηκε μία διατροφική προσέγγιση που στόχευε στην αντιμετώπιση της υπέρτασης (Dietary Approaches to Stop Hypertension, DASH). Ογδόντα άτομα είτε κατανάλωναν μια τυπική διατροφή DASH, δηλαδή μια δίαιτα με βάση τα λαχανικά, τα φρούτα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα με χαμηλά λιπαρά, ή μια δίαιτα DASH μαζί με συμπλήρωμα προβιοτικών. Συνολικά το 15% αυτών των ατόμων βρισκόταν στο στάδιο του προδιαβήτη. Οι τιμές της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, του σακχάρου

νηστείας στον ορό και της αρτηριακής πίεσης, καταγράφηκαν στην αρχή και στο τέλος ενός διαστήματος διατροφικής παρέμβασης τριών μηνών. Οι τιμές της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, η οποία παρέχει μια εικόνα της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο πλάσμα κατά τη διάρκεια του τελευταίου τριμήνου, ήταν χαμηλότερες στο τέλος της μελέτης και στις δύο ομάδες, υποδηλώνοντας βελτίωση στη διαχείριση του μεταβολισμού της γλυκόζης. Αξιοσημείωτο όμως είναι το γεγονός ότι η ομάδα που έλαβε προβιοτικά, είχε στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης σε σύγκριση με την άλλη ομάδα. Συγκεκριμένα, η ομάδα DASH εμφάνισε μείωση της τάξης του 3,4%, ενώ η ομάδα που είχε λάβει συμπλήρωμα με προβιοτικά παρουσίασε μείωση της τάξης του 8,9%. Τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας του πλάσματος ακολούθησαν παρόμοια πορεία, με μείωση κατά 10,7% στην ομάδα με τα προβιοτικά, και μόλις 3,3% στην άλλη ομάδα [97].

Παρά το γεγονός ότι τόσο η δίαιτα μικροβιώματος όσο και τα συμπληρώματα προβιοτικών είναι κάπως νέες έννοιες, φαίνεται να υπάρχει σημαντική υποστήριξη από την επιστημονική κοινότητα. Ενώ η έρευνα σχετικά με τη δίαιτα μικροβιώματος είναι περιορισμένη, είναι ξεκάθαρο ότι η μείωση του λόγου B / F αποτελεί αξιοσημείωτο σημείο όσον αφορά τη διαχείριση των σχετιζόμενων ασθενειών. Τα συμπληρώματα προβιοτικών επέκτειναν την ευεργετική επίδραση τους στην υγεία του ατόμου, όταν συνδυάστηκαν με τη δίαιτα DASH.

Πρόσφατη έρευνα σχετικά με το εντερικό μικροβίωμα έχει στρέψει την προσοχή στο διατροφικό προφίλ, υπογραμμίζοντας ότι η κατανάλωση πιο υγιεινής διατροφής μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο ασθένειας. Στην πραγματικότητα, έχουν υπάρξει αρκετές αναφορές και για άλλες ασθένειες που σχετίζονται με την παχυσαρκία, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις και ο καρκίνος του παχέος εντέρου. Σε μια μελέτη που έγινε από τους Sikalidis *et al.*, χορηγήθηκε κατάλληλη δίαιτα σε ποντικούς ώστε να

αναπτυχθεί παχυσαρκία, και βρέθηκε ότι τα παχύσαρκα ποντίκια εμφάνιζαν σημαντικά πιο ανώμαλες εστίες εντερικών κρυπτών και υψηλότερα ποσοστά κυτταρικού πολλαπλασιασμού των κυττάρων του κόλου από ότι τα μη παχύσαρκα αντίστοιχά τους [139]. Αυτά τα αποτελέσματα υπογραμμίζουν περαιτέρω τη σπουδαιότητα της υγιεινής διατροφής και του υγιούς εντερικού μικροβιώματος. Μία δίαιτα χαμηλών λιπαρών φαίνεται να βελτιώνει το λόγο B / F, μειώνοντας τον κίνδυνο παχυσαρκίας και, ως εκ τούτου, μειώνοντας το συνολικότερο κίνδυνο εμφάνισης νόσου. Ο ρόλος του μικροβιώματος στην εμφάνιση ΣΔ2 έχει αποσαφηνιστεί σε μεγάλο βαθμό, με αποτέλεσμα να διερευνηθεί αυτός, ο μέχρι πρόσφατα υποτιμημένος παράγοντας, με σημαντικές όμως επιπτώσεις στην υγεία. Η αντιμετώπιση του ΣΔ2 είναι σίγουρα πολύ πιο περίπλοκη από την αντιμετώπιση ενός μεμονωμένου παράγοντα. Παρόλα αυτά, εξετάζοντας το εντερικό μικροβίωμα και το πώς τροποποιεί τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ2, θα μπορούσαν να προκύψουν νέες απαντήσεις και πεδία έρευνας, που ίσως προωθούσαν μια πιο αποτελεσματική διαχείριση των ασθενών με ΣΔ2.

Το διατροφικό προφίλ φαίνεται να έχει σημαντική επίδραση στην υγεία του εντέρου, η οποία με τη σειρά της είναι υπεύθυνη για τη βέλτιστη ρύθμιση πολλών σηματοδοτικών μονοπατιών στο σώμα. Στην περίπτωση της δυσβίωσης, πολλά από αυτά τα μονοπάτια επηρεάζονται αρνητικά, συμβάλλοντας τελικά στην εμφάνιση χρόνιων ασθενειών. Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν την ιδέα ότι μια χορτοφαγική διατροφή μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μειωμένη φλεγμονή, καλύτερη αναλογία B / F και γενικά χαμηλότερο συνολικά κίνδυνο εμφάνισης ασθένειας [140]. Πρόσφατα, ωστόσο, διερευνήθηκε η επίδραση της μαγειρεμένης έναντι της ωμής τροφής στο μικροβίωμα, μέσω μελέτης ποντικών στα οποία είχε χορηγηθεί ψημένο ή ωμό βόειο κρέας ή γλυκοπατάτα. Και οι δύο μαγειρεμένες τροφές οδήγησαν σε αυξημένη μάζα σώματος, παρά τη χαμηλότερη θερμιδική πρόσληψη, υποστηρίζοντας την ιδέα ότι το

μαγείρεμα των τροφών έχει ως αποτέλεσμα αυξημένο καθαρό ενεργειακό κέρδος [56]. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός, ότι τα ποντίκια που έτρωγαν το βόειο κρέας, μαγειρεμένο ή ωμό, εμφάνιζαν μεταξύ τους παρόμοια σύνθεση μικροβιώματος, κάτι που δεν ίσχυε για τα ποντίκια που τράφηκαν με τη γλυκοπατάτα, μαγειρεμένη ή ωμή. Πιο αναλυτικά, οι ποντικοί που ελάμβαναν μαγειρεμένη γλυκοπατάτα παρουσίασαν μειωμένη βακτηριακή ποικιλομορφία ενώ όσοι ελάμβαναν ακατέργαστη παρουσίασαν αυξημένη απώλεια βάρους. Πιστεύεται ότι αυτό το αποτέλεσμα οφείλεται στην προαναφερθείσα διαπίστωση, ότι το μαγείρεμα συνεπάγεται αυξημένη συγκομιδή ενέργειας. Οι ποντικοί που τράφηκαν με την ακατέργαστη πατάτα παρουσίαζαν επίσης καλύτερη πέψη του αμύλου και διάσπαση των φυτικών ενώσεων [141]. Ως εκ τούτου, μπορεί να υποστηριχθεί, ότι ενώ οι άνθρωποι στην πορεία της εξέλιξής τους έμαθαν να μαγειρεύουν τα τρόφιμά τους λόγω του ενεργειακού οφέλους, για την απώλεια βάρους και τον μειωμένο κίνδυνο παχυσαρκίας, μια ωμή και χορτοφαγική διατροφή μπορεί να είναι πιο ευνοϊκή, τουλάχιστον οριακά.

Είναι προφανές ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της διατροφής και του εντερικού μικροβιώματος, συμπεριλαμβανομένου του ρόλου του μικροβιώματος στην παχυσαρκία. Φαίνεται επίσης ότι υπάρχει σύνδεση μεταξύ του μικροβιώματος και του ΣΔ2. Ωστόσο, είναι απαραίτητη περαιτέρω έρευνα στο συγκεκριμένο πεδίο, με στόχο τον προσδιορισμό μίας αποτελεσματικής θεραπευτικής προσέγγισης για το ΣΔ2, μέσω της αξιοποίησης του δυναμικού του εντερικού μικροβιώματος.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus--present and future perspectives. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 8:228-236.
2. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 2001; 414:782-787.
3. Kahn CR Banting Lecture. Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. *Diabetes* 1994; 43:1066-1084.
4. Fujioka K Pathophysiology of type 2 diabetes and the role of incretin hormones and beta-cell dysfunction. *JAAPA* 2007; Suppl:3-8.
5. Ripsin CM, Kang H, Urban RJ Management of blood glucose in type 2 diabetes mellitus. *Am Fam Physician* 2009; 79:29-36
6. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, *et al.* Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* 2001; 345:790-797.
7. Centers for Disease C, Prevention Prevalence of overweight and obesity among adults with diagnosed diabetes--United States, 1988-1994 and 1999-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53:1066-1068
8. Barlow SE, Expert C Expert committee recommendations regarding the prevention, assessment, and treatment of child and adolescent overweight and obesity: summary report. *Pediatrics* 120 2007; Suppl 4:S164-192.
9. Lang IA, Galloway TS, Scarlett A, *et al.* Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA* 2008; 300:1303-1310.
10. Rother KI Diabetes treatment--bridging the divide. *N Engl J Med* 2007; 356 :1499-

11. McCarthy MI Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *N Engl J Med* 2010; 363 :2339-2350.
12. Walley AJ, Blakemore AI, Froguel P Genetics of obesity and the prediction of risk for health. *Hum Mol Genet* 2006; 15 Spec No 2:R124-130.
13. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J, Group IDFETFC The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet* 2005; 366:1059-1062.
14. Jack L, Jr., Boseman L, Vinicor F Aging Americans and diabetes. A public health and clinical response. *Geriatrics* 2004; 59:14-17
15. Sousa AG, Selvatici L, Krieger JE, Pereira AC Association between genetics of diabetes, coronary artery disease, and macrovascular complications: exploring a common ground hypothesis. *Rev Diabet Stud* 2011; 8:230-244.
16. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev* 2010; 90:859-904.
17. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, *et al.* Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol* 2015; 21:8787-8803.
18. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104:13780-13785.
19. O'Hara AM, Shanahan F The gut flora as a forgotten organ. *EMBO* 2006; Rep 7:688-693.
20. Pei Z, Bini EJ, Yang L, Zhou M, Francois F, Blaser MJ Bacterial biota in the human distal esophagus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:4250-4255.
21. Justesen T, Nielsen OH, Jacobsen IE, Lave J, Rasmussen SN The normal cultivable microflora in upper jejunal fluid in healthy adults. *Scand J Gastroenterol* 1984; 19:279-282

22. Andersson AF, Lindberg M, Jakobsson H, Backhed F, Nyren P, Engstrand L Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS One* 2008; 3:e2836.
23. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444:1022-1023.
24. Gillespie JJ, Wattam AR, Cammer SA, *et al.* PATRIC: the comprehensive bacterial bioinformatics resource with a focus on human pathogenic species. *Infect Immun* 2011; 79:4286-4298.
25. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale LP Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: a fluorescence in situ hybridization study in mice. *World J Gastroenterol* 2005; 11:1131-1140.
26. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, *et al.* Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473:174-180.
27. Sonnenburg JL, Xu J, Leip DD, *et al.* Glycan foraging in vivo by an intestine-adapted bacterial symbiont. *Science* 2005; 307:1955-1959.
28. Macfarlane S, Macfarlane GT Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc* 2003; 62:67-72.
29. Sartor RB Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2008; 134:577-594.
30. Samuel BS, Shaito A, Motoike T, *et al.* 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* 2008; 105:16767-16772.
31. Cantarel BL, Lombard V, Henrissat B Complex carbohydrate utilization by the healthy human microbiome. *PLoS One* 2012; 7:e28742.

32. Magwira CA, Kullin B, Lewandowski S, Rodgers A, Reid SJ, Abratt VR Diversity of faecal oxalate-degrading bacteria in black and white South African study groups: insights into understanding the rarity of urolithiasis in the black group. *J Appl Microbiol* 2012; 113:418-428.
33. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 2001; 291:881-884.
34. Thomas CM, Hong T, van Pijkeren JP, *et al.* Histamine derived from probiotic *Lactobacillus reuteri* suppresses TNF via modulation of PKA and ERK signaling. *PLoS One* 2001; 7:e31951.
35. De Biase D, Pennacchietti E Glutamate decarboxylase-dependent acid resistance in orally acquired bacteria: function, distribution and biomedical implications of the *gadBC* operon. *Mol Microbiol* 2012; 86:770-786.
36. Baddini Feitoza A, Fernandes Pereira A, Ferreira da Costa N, Goncalves Ribeiro B Conjugated linoleic acid (CLA): effect modulation of body composition and lipid profile. *Nutr Hosp* 2009; 24:422-428
37. Devillard E, McIntosh FM, Paillard D, Thomas NA, Shingfield KJ, Wallace RJ Differences between human subjects in the composition of the faecal bacterial community and faecal metabolism of linoleic acid. *Microbiology* 2009; 155:513-520.
38. Fukuya S, Arata M, Kawashima H, Yoshida D, Kaneko M, Minamida K, Watanabe J, Ogura Y, Uchida K, Itoh K, Wada M, Ito S, Yokota A Conversion of cholic acid and chenodeoxycholic acid into their 7-oxo derivatives by *Bacteroides intestinalis* AM-1 isolated from human feces. *FEMS Microbiol Lett* 2009; 293:263-270.
39. Velagapudi VR, Hezaveh R, Reigstad CS, *et al.* The gut microbiota modulates host energy and lipid metabolism in mice. *J Lipid Res* 2010; 51:1101-1112.

40. Clayton TA, Baker D, Lindon JC, Everett JR, Nicholson JK Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106:14728-14733.
41. Saha JR, Butler VP, Jr., Neu HC, Lindenbaum J Digoxin-inactivating bacteria: identification in human gut flora. *Science* 1983; 220:325-327.
42. Wallace BD, Wang H, Lane KT, *et al.* Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme. *Science* 2010; 330:831-835.
43. Kim YS, Ho SB Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Curr Gastroenterol Rep* 2010; 12:319-330.
44. Johansson ME, Larsson JM, Hansson GC The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 2011; Suppl 1:4659-4665.
45. Artis D, Wang ML, Keilbaugh SA, *et al.* RELMbeta/FIZZ2 is a goblet cell-specific immune-effector molecule in the gastrointestinal tract. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:13596-13600.
46. Hooper LV Do symbiotic bacteria subvert host immunity? *Nat Rev Microbiol* 2009; 7:367-374.
47. Takeuchi O, Akira S Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140:805-820.
48. Cash HL, Whitham CV, Behrendt CL, Hooper LV Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science* 2006; 313:1126-1130.
49. Lopez-Boado YS, Wilson CL, Hooper LV, Gordon JI, Hultgren SJ, Parks WC Bacterial exposure induces and activates matrilysin in mucosal epithelial cells. *J Cell Biol* 2000; 148:1305-1315.

50. Alakomi HL, Skytta E, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Latva-Kala K, Helander IM Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66:2001-2005.
51. Termen S, Tollin M, Rodriguez E, *et al.* PU.1 and bacterial metabolites regulate the human gene CAMP encoding antimicrobial peptide LL-37 in colon epithelial cells. *Mol Immunol* 2008; 45:3947-3955.
52. He B, Xu W, Santini PA, *et al.* Intestinal bacteria trigger T cell-independent immunoglobulin A(2) class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. *Immunity* 2007; 26:812-826.
53. Macpherson AJ, Uhr T Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 2004; 303:1662-1665.
54. 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.
55. Geuking MB, Cahenzli J, Lawson MA, *et al.* Intestinal bacterial colonization induces mutualistic regulatory T cell responses. *Immunity* 2011; 34:794-806.
56. Arpaia N, Campbell C, Fan X, *et al.* Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature* 2013; 504:451-455.
57. Suzuki K, Maruya M, Kawamoto S, *et al.* The sensing of environmental stimuli by follicular dendritic cells promotes immunoglobulin A generation in the gut. *Immunity* 2010; 33:71-83.
58. Spits H, Di Santo JP The expanding family of innate lymphoid cells: regulators and effectors of immunity and tissue remodeling. *Nat Immunol* 2011; 12:21-27.

59. Manta C, Heupel E, Radulovic K, *et al.* CX(3)CR1(+) macrophages support IL-22 production by innate lymphoid cells during infection with *Citrobacter rodentium*. *Mucosal Immunol* 2013; 6:177-188.
60. Franchi L, Kamada N, Nakamura Y, Burberry A, Kuffa P, Suzuki S, Shaw MH, Kim YG, Nunez G NLRC4-driven production of IL-1beta discriminates between pathogenic and commensal bacteria and promotes host intestinal defense. *Nat Immunol* 2012; 13:449-456.
61. Bates JM, Akerlund J, Mittge E, Guillemin K Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota. *Cell Host Microbe* 2007; 2:371-382.
62. Lotz M, Gutle D, Walther S, Menard S, Bogdan C, Hornef MW Postnatal acquisition of endotoxin tolerance in intestinal epithelial cells. *J Exp Med* 2006; 203:973-984.
63. Lutgendorff F, Akkermans LM, Soderholm JD The role of microbiota and probiotics in stress-induced gastro-intestinal damage. *Curr Mol Med* 2008; 8:282-298.
64. Yan F, Cao H, Cover TL, *et al.* Colon-specific delivery of a probiotic-derived soluble protein ameliorates intestinal inflammation in mice through an EGFR-dependent mechanism. *J Clin Invest* 2011; 121:2242-2253.
65. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, *et al.* Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut* 2009; 58:1091-1103.
66. Stappenbeck TS, Hooper LV, Gordon JI Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99:15451-15455.
67. Hooper LV, Gordon JI Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 2001; 292:1115-1118.

68. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, *et al.* Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107:11971-11975.
69. Gosalbes MJ, Llop S, Valles Y, Moya A, Ballester F, Francino MP Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clin Exp Allergy* 2013; 43:198-211.
70. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:1035S-1045S.
71. Biagi E, Nylund L, Candela M, *et al.* Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One* 2010; 5:e10667.
72. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, *et al.* Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108 Suppl 1:4586-4591.
73. Lan Y, Kriete A, Rosen GL Selecting age-related functional characteristics in the human gut microbiome. *Microbiome* 2013; 1:2.
74. Groer MW, Luciano AA, Dishaw LJ, Ashmeade TL, Miller E, Gilbert JA Development of the preterm infant gut microbiome: a research priority. *Microbiome* 2014; 2:38.
75. Sherman MP, Zaghouani H, Niklas V Gut microbiota, the immune system, and diet influence the neonatal gut-brain axis. *Pediatr Res* 2015; 77:127-135.
76. Brown EM, Sadarangani M, Finlay BB The role of the immune system in governing host-microbe interactions in the intestine. *Nat Immunol* 2013; 14:660-667.

77. Ouwehand A, Isolauri E, Salminen S The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood. *Eur J Nutr* 2002; 41 Suppl 1:132-37.
78. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, *et al.* Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30:61-67.
79. Walker AW, Ince J, Duncan SH, *et al.* Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *ISME J* 2011; 5:220-230.
80. David LA, Maurice CF, Carmody RN, *et al.* Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014; 505:559-563.
81. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, *et al.* Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107:14691-14696.
82. Davenport ER, Mizrahi-Man O, Michelini K, Barreiro LB, Ober C, Gilad Y Seasonal variation in human gut microbiome composition. *PLoS One* 2014; 9:e90731.
83. Duenas M, Munoz-Gonzalez I, Cueva C, *et al.* A survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols. *Biomed Res Int* 2015; 2015:850902.
84. O'Sullivan L, Murphy B, McLoughlin P, *et al.* Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. *Mar Drugs* 2010; 8:2038-2064.
85. Ramnani P, Chitarrari R, Tuohy K, *et al.* In vitro fermentation and prebiotic potential of novel low molecular weight polysaccharides derived from agar and alginate seaweeds. *Anaerobe* 2012; 18:1-6.
86. Hehemann JH, Correc G, Barbeyron T, Helbert W, Czjzek M, Michel G Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota. *Nature* 2010; 464:908-912.

87. Dethlefsen L, McFall-Ngai M, Relman DA An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease. *Nature* 2007; 449:811-818.
88. Bohnhoff M, Miller CP Enhanced susceptibility to *Salmonella* infection in streptomycin-treated mice. *J Infect Dis* 1962; 111:117-127.
89. Ng KM, Ferreyra JA, Higginbottom SK, *et al.* Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. *Nature* 2013; 502:96-99.
90. Jernberg C, Lofmark S, Edlund C, Jansson JK Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J* 2007; 1:56-66.
91. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjolund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One* 2010; 5:e9836.
92. Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol* 2008; 6:e280.
93. Panda S, El khader I, Casellas F, *et al.* Short-term effect of antibiotics on human gut microbiota. *PLoS One* 2014; 9:e95476.
94. Frost LS, Leplae R, Summers AO, Toussaint A Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. *Nat Rev Microbiol* 2005; 3:722-732.
95. Butel MJ Probiotics, gut microbiota and health. *Med Mal Infect* 2014; 44:1-8.
96. Meijnikman AS, Gerdes VE, Nieuwdorp M, Herrema H Evaluating Causality of Gut Microbiota in Obesity and Diabetes in Humans. *Endocr Rev* 2018; 39:133-153.
97. Sikalidis AK, Maykish A The Gut Microbiome and Type 2 Diabetes Mellitus: Discussing a Complex Relationship. *Biomedicines* 2020; 8.
98. Gurung M, Li Z, You H, Rodrigues R, Jump DB, Morgun A, Shulzhenko N Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine* 2020; 51:102590.

99. Saad MJA, Santos A, Prada PO Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance. *Physiology* 2016; 31:283-293.
100. Graham C, Mullen A, Whelan K Obesity and the gastrointestinal microbiota: a review of associations and mechanisms. *Nutrition Reviews* 2015; 73:376-385.
101. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzamelis I, Yin H, Flier JS TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation* 2006; 116:3015-3025.
102. Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, *et al.* Butyrate Improves Insulin Sensitivity and Increases Energy Expenditure in Mice. *Diabetes* 2009; 58:1509-1517.
103. Schnorr SL, Candela M, Rampelli S, *et al.* Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers. *Nature Communications* 2014; 5.
104. Sikalidis AK Amino Acids and Immune Response: A Role for Cysteine, Glutamine, Phenylalanine, Tryptophan and Arginine in T-cell Function and Cancer? *Pathology & Oncology Research* 2014; 21:9-17.
105. Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, *et al.* Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* 2009; 461:1282-1286.
106. Kristo A, Klimis-Zacas D, Sikalidis A Protective Role of Dietary Berries in Cancer. *Antioxidants* 2016; 5.
107. Newgard CB, An J, Bain JR, *et al.* A Branched-Chain Amino Acid-Related Metabolic Signature that Differentiates Obese and Lean Humans and Contributes to Insulin Resistance. *Cell Metabolism* 2009; 9:311-326.
108. Yoon MS mTOR as a Key Regulator in Maintaining Skeletal Muscle Mass. *Front Physiol* 2017; 8:788.
109. Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, *et al.* Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat Med* 2011; 17:448-453.

110. Wahlstrom A, Sayin SI, Marschall HU, Backhed F Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. *Cell Metab* 2016; 24:41-50.
111. Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, Gonzalez FJ Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell* 2000; 102:731-744.
112. Russell DW The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis. *Annu Rev Biochem* 2003; 72:137-174.
113. de Aguiar Vallim TQ, Tarling EJ, Edwards PA Pleiotropic roles of bile acids in metabolism. *Cell Metab* 2013; 17:657-669.
114. Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J Lipid Res* 2006; 47:241-259.
115. Sayin SI, Wahlstrom A, Felin J, *et al.* Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. *Cell Metab* 2013; 17:225-235.
116. Watanabe M, Houten SM, Matakai C, *et al.* Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature* 2006; 439:484-489.
117. Li F, Jiang C, Krausz KW, *et al.* Microbiome remodelling leads to inhibition of intestinal farnesoid X receptor signalling and decreased obesity. *Nat Commun* 2013; 4:2384.
118. Watanabe M, Horai Y, Houten SM, *et al.* Lowering bile acid pool size with a synthetic farnesoid X receptor (FXR) agonist induces obesity and diabetes through reduced energy expenditure. *J Biol Chem* 2011; 286:26913-26920.
119. Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, *et al.* Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature* 2013; 499:97-101.

120. Prinz P, Hofmann T, Ahnis A, *et al.* Plasma bile acids show a positive correlation with body mass index and are negatively associated with cognitive restraint of eating in obese patients. *Front Neurosci* 2015; 9:199.
121. Adrian TE, Gariballa S, Parekh KA, *et al.* Rectal taurocholate increases L cell and insulin secretion, and decreases blood glucose and food intake in obese type 2 diabetic volunteers. *Diabetologia* 2012; 55:2343-2347.
122. Patti ME, Houten SM, Bianco AC, *et al.* Serum bile acids are higher in humans with prior gastric bypass: potential contribution to improved glucose and lipid metabolism. *Obesity (Silver Spring)* 2009; 17:1671-1677.
123. Ryan KK, Tremaroli V, Clemmensen C, *et al.* FXR is a molecular target for the effects of vertical sleeve gastrectomy. *Nature* 2014; 509:183-188.
124. Flynn CR, Albaugh VL, Cai S, *et al.* Bile diversion to the distal small intestine has comparable metabolic benefits to bariatric surgery. *Nat Commun* 2015; 6:7715.
125. Tsalamandris S, Antonopoulos AS, Oikonomou E, *et al.* The Role of Inflammation in Diabetes: Current Concepts and Future Perspectives. *European Cardiology Review* 2019; 14.
126. Nordmann TM, Dror E, Schulze F, *et al.* The Role of Inflammation in β -cell Dedifferentiation. *Scientific Reports* 2017; 7.
127. Purnell JQ, Elmer P, McMurry M, *et al.* Effect of the Anti-Inflammatory Diet in People with Diabetes and Pre-Diabetes: A Randomized Controlled Feeding Study. *Journal of Restorative Medicine* 2019; 8.
128. Kwon H, Pessin JE Adipokines Mediate Inflammation and Insulin Resistance. *Frontiers in Endocrinology* 2013; 4.
129. Graessler J, Qin Y, Zhong H, *et al.* Metagenomic sequencing of the human gut microbiome before and after bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes:

correlation with inflammatory and metabolic parameters. *The Pharmacogenomics Journal* 2012; 13:514-522.

130. Gaetani S, Ding S, Chi MM, *et al.* High-Fat Diet: Bacteria Interactions Promote Intestinal Inflammation Which Precedes and Correlates with Obesity and Insulin Resistance in Mouse. *PLoS ONE* 2010; 5.

131. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, *et al.* Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012; 143:913-916 e917.

132. Pedersen HK, Gudmundsdottir V, Nielsen HB, *et al.* Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature* 2016; 535:376-381.

133. Lee H, Ko G Effect of metformin on metabolic improvement and gut microbiota. *Appl Environ Microbiol* 2014; 80:5935-5943.

134. Sanz Y, Olivares M, Moya-Perez A, Agostoni C Understanding the role of gut microbiome in metabolic disease risk. *Pediatr Res* 2015; 77:236-244.

135. Asmat U, Abad K, Ismail K Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharm J* 2016; 24:547-553.

136. Betteridge DJ What is oxidative stress? *Metabolism* 2000; 49:3-8.

137. Qiao Y, Sun J, Ding Y, Le G, Shi Y Alterations of the gut microbiota in high-fat diet mice is strongly linked to oxidative stress. *Appl Microbiol Biotechnol* 2013; 97:1689-1697.

138. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, *et al.* Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One* 2010; 5:e9085.

139. Sikalidis AK, Fitch MD, Fleming SE Diet Induced Obesity Increases the Risk of Colonic Tumorigenesis in Mice. *Pathology & Oncology Research* 2013; 19:657-666.

140. Tomova A, Bukovsky I, Rembert E, *et al.* The Effects of Vegetarian and Vegan Diets on Gut Microbiota. *Frontiers in Nutrition* 2019; 6.
141. Carmody RN, Bisanz JE, Bowen BP, *et al.* Cooking shapes the structure and function of the gut microbiome. *Nat Microbiol* 2019; 4 :2052-2063.