



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**Η ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗ ΝΟΣΟ**



**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Μηχανισμοί δράσης και εφαρμογές των  
Μεταβιοτικών**

Μούρτου Κωνσταντίνα  
Φαρμακοποιός

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Ποταμιάνος Σπυρίδων, Καθηγητής Γαστρεντερολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου  
Θεσσαλίας, Επιβλέπων Καθηγητής

Καμωριτάκης Ανδρέας, Καθηγητής Παθολογίας-Γαστρεντερολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πα-  
νεπιστημίου Θεσσαλίας, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

Μανωλάκης Αναστάσιος, Επίκουρος Καθηγητής Γαστρεντερολογίας, Τμήμα Ιατρικής Πα-  
νεπιστημίου Θεσσαλίας, Μέλος Τριμελούς Επιτροπής

**Λάρισα, 2022**



**UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
FACULTY OF MEDICINE  
POSTGRADUATE STUDIES PROGRAM  
NUTRITION IN HEALTH AND DISEASE**



**DIPLOMA THESIS**

**Mechanisms of action and applications of Postbiotics**

**Larissa, 2022**

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Περίληψη.....	04
Abstract.....	05
Εισαγωγή.....	06
Γενικό μέρος.....	07
Μεταβιοτικά : Ορισμός, πλεονεκτήματα, μέθοδοι παραγωγής.....	07
Μικροβίωμα και ανοσοποιητικό.....	08
Εντερικό νευρικό σύστημα και Πνευμονογαστρικό νεύρο.....	09
Άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια.....	10
Μηχανισμοί δράσης των πιο κοινά χρησιμοποιούμενων μεταβιοτικών.....	11
Εφαρμογές μεταβιοτικών σε διαταραχές της ομοιόστασης.....	15
Φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου.....	15
Άλλες φλεγμονώδεις διαταραχές.....	17
Συναισθηματικό στρες.....	18
Γαστρεντερικά προβλήματα εκτός των IBD.....	19
Καρκινικές βλάβες.....	20
Παρενέργειες αντικαρκινικής θεραπείας.....	21
Οξεία νόσος μοσχέυματος.....	22
Συνέργεια με βιταμίνη D.....	23
Βρεφικά παρασκευάσματα.....	24
Αλλεργίες, δυσανεξία και ατοπική δερματίτιδα.....	24
Περιοδοντίτιδα.....	25
Αντιμικροβιακή δράση.....	27
Ενίσχυση ανοσοποιητικού σε υποσιτισμένους οργανισμούς.....	31
Παχυσαρκία.....	32
Υπερχοληστερολαιμία-Αθηροσκλήρυνση.....	33
Σακχαρώδης διαβήτης.....	33
Θερμογένεση.....	35
Οστεοκλαστογένεση.....	37
Δερματικές βλάβες.....	38
Διάφορες δράσεις.....	40
Παράδειγμα μειωμένης δράσης μεταβιοτικού λόγω πεπτικών συνθηκών.....	42
Μεταβιοτικά ως βιοδείκτες.....	43
Συζήτηση.....	44
Βιβλιογραφία.....	45
Παράρτημα.....	51
Συνοτομογραφίες.....	51

## Περίληψη

Έχει βρεθεί ότι η δυσβίωση της μικροχλωρίδας συμμετέχει στην παθογένεση ασθενειών. Τα προβιοτικά έχουν χρησιμοποιηθεί ως μέτρο πρόληψης αλλά και θεραπείας. Ωστόσο, υπάρχουν προβλήματα ως προς την ασφαλή χρήση τους. Τα τελευταία χρόνια οι έρευνες έχουν στραφεί στα στοιχεία από τα οποία συνιστώνται τα προβιοτικά και στις ουσίες που εκκρίνουν, τα ονομαζόμενα μεταβιοτικά, καθώς διαθέτουν σαφείς δομές. Στην παρούσα διπλωματική εργασία γίνεται προσπάθεια μελέτης των πιθανών μηχανισμών δράσης των μεταβιοτικών, της διεκρίνισης της χημικής-μοριακής δομής τους, των αλληλεπιδράσεών τους. Ακόμη, διερευνάται εάν μπορούν να εφαρμοσθούν ως προληπτικό ή θεραπευτικό μέτρο και σε ποιες νόσους, ποιες οι πιθανές παρενέργειές τους, ποιες οι εφαρμογές τους στη βιομηχανία τροφίμων και φαρμακευτικών προϊόντων και εάν υπάρχει αναλογία δόσης απόκρισης. Η αναζήτηση του υλικού της βιβλιογραφικής ανασκόπησης έγινε στις βάσεις δεδομένων Scopus, Pubmed, HEAL-Link, Science Direct. Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν είναι από δημοσιεύσεις της τελευταίας πενταετίας. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι τα μεταβιοτικά διαθέτουν ποικίλες βιολογικές δράσεις που μπορούν να προάγουν την υγεία του οργανισμού. Ωστόσο, δεν είναι άμοιρα παρενεργειών και κάποιες φορές μπορεί να μην έχουν καμία επίδραση στον οργανισμό. Αν και η δράση τους εξαρτάται από τη δόση, δεν έχει διευκρινισθεί σε όλες τις έρευνες η συνιστώμενη δοσολογία. Τα μεταβιοτικά, σε αντίθεση με τα προβιοτικά, δεν χρειάζεται να αποικισθούν. Ακόμη μπορούν να δράσουν σε συνεργασία με τα πρεβιοτικά και να ενσωματωθούν σε διατροφικές φόρμουλες. Η σύνθεσή τους επηρεάζεται από τις συνθήκες καλλιέργειας και επεξεργασίας. Αυτή τους η ιδιότητα τα καθιστά ασφαλή σε ανοσοκατεσταλμένους και βρέφη, παιδιά που έχουν ανώριμο ανοσοποιητικό σύστημα. Η παρεμβολή τους στην έκφραση φλεγμονωδών και σηματοδοτικών μονοπατιών μπορεί να ενισχύσει την άμυνα του οργανισμού τροποποιώντας αιματολογικές, βιοχημικές, ανθρωπομετρικές παραμέτρους. Ωστόσο, χρειάζονται περισσότερες εργαστηριακές και κλινικές έρευνες για την επικύρωση των ακριβών μηχανισμών δράσης και των ευεργετικών αποτελεσμάτων τους στον οργανισμό.

**Λέξεις κλειδιά :** Μεταβιοτικά, Διατροφή, Βιοδραστικές ενώσεις, Μηχανισμοί δράσης, Μικροχλωρίδα

## **Abstract**

Microflora dysbiosis has been found to be involved in the pathogenesis of diseases. Probiotics have been used as a prevention and treatment measure. However, there are problems with their safe use. In recent years, research has focused on the constituents of probiotics and the substances they secrete, called postbiotics, as they have clear structures. In the present dissertation an attempt is made to study the possible mechanisms of action of postbiotics, the elucidation of their chemical-molecular structure, their interactions. It also investigates whether they can be applied as a preventive or therapeutic measure and in which diseases, what are their possible side effects, what are their applications in the food and pharmaceutical industry and if there is a dose-response ratio. The bibliographic review material was searched in the databases Scopus, Pubmed, HEAL-Link, Science Direct. The data collected are from publications of the last five years. This study showed that postbiotics have a variety of biological actions that can promote the health of the body. However, they are not without side effects and sometimes they may have no effect on the body. Although their action is dose dependent, the recommended dosage has not been specified in all studies. Postbiotics, unlike probiotics, do not need to be colonized. They can also work in conjunction with prebiotics and be incorporated into nutritional formulas. Their composition is influenced by the growing and processing conditions. This property makes them safe for immunocompromised and infants, children with immature immune systems. Their interference in the expression of inflammatory and signaling pathways can strengthen the body's defense by modifying hematological, biochemical, anthropometric parameters. However, more laboratory and clinical research is needed to validate the exact mechanisms of action and their beneficial effects on the body.

**Keywords :** Postbiotics, Nutrition, Bioactive compounds, Mechanisms of action, Microbiome

## **Εισαγωγή**

Τα μεταβιοτικά μπορούν να προστατεύουν και να διατηρούν τους αμυντικούς φραγμούς καθώς και να προωθούν τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων. Καταστέλλουν την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών και προωθούν την παραγωγή αντιφλεγμονωδών, βελτιώνοντας έτσι την ανοσολογική απόκριση. Αναστέλλουν την προσκόλληση και εισβολή μικροβίων αλλά και ενισχύουν την παραγωγή IgA. Επαναφέρουν την ισορροπία ανάμεσα στην Th1 και Th2 απόκριση. Ακόμη, μέσω της επίδρασής τους στην αναστολή ή προαγωγή της έκφρασης γονιδίων, μέσω της σύνδεσής τους με υποδοχείς καθώς και μέσω της ενεργοποίησης ή καταστολής σηματοδοτικών μονοπατιών, συμβάλλουν στην αντιμετώπιση παθολογικών καταστάσεων. Ο προσδιορισμός της δόσης τους και η ικανότητά τους να διανέμονται στη σωστή θέση, τους προσδίδει πλεονεκτήματα. Καθώς τα προϊόντα της μικροχλωρίδας συμμετέχουν στην ομοιόσταση του οργανισμού, η διατάραξη της ισορροπίας αυτών συμβάλλει στην εμφάνιση ασθενειών. Σκοπός της εργασίας είναι να μελετηθούν τα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με τα μεταβιοτικά και να παρουσιασθούν η αποτελεσματικότητα και οι εφαρμογές αυτών.

## Γενικό μέρος

Η περιοδική λήψη προβιοτικών μπορεί να οδηγήσει σε λοιμώξεις, φλεγμονώδη απόκριση, γονιδιακή μεταφορά στο μικροβίωμα του ξενιστή, όπως γονίδια αντοχής στα αντιβιοτικά (1). Αυτό διότι τα ζωντανά προβιοτικά βακτήρια μπορούν να μεταφερθούν από τον εντερικό αυλό στο αίμα και να επιβαρύνουν ευαίσθητους και ανοσοκατεσταλμένους οργανισμούς (2). Σε παιδιά κάτω τα πέντε ετών μπορούν να προκαλέσουν πνευμονία και μηνιγγίτιδα (1). Τα προβιοτικά εμφανίζουν χαμηλή ανεκτικότητα σε θερμική επεξεργασία, χαμηλό pH, στο νερό. Αν και η ενθυλάκωσή τους έχει προταθεί για την προστασία τους, η μέθοδος τελικά δεν αποδείχθηκε αποτελεσματική, με συνέπεια τον περιορισμό στη χρήση τους στη βιομηχανία τροφίμων (3). Η ευαισθησία τους στην υγρασία, τη θερμοκρασία, τον αέρα, τα υψηλά επίπεδα οξυγόνου, μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα τους κατά την αποθήκευση ή κατά την παράδοση στο σημείο δράσης (4).

## Μεταβιοτικά : Ορισμός, πλεονεκτήματα, μέθοδοι παραγωγής

Ως μεταβιοτικά ορίζονται τα εξής. Τα νεκρά ή αδρανοποιημένα κύτταρα προβιοτικών, τα οποία είναι είτε άθικτα είτε απελευθερώνουν προβιοτικά κυτταρικά συστατικά και μεταβολικά προϊόντα κατά τη λύση. Ακόμη, ορίζονται είτε ως μείγμα μεταβολικών προβιοτικών προϊόντων είτε ως εκκρινόμενα προβιοτικά συστατικά αυτών σε υπερκείμενα ή λύματα. Μεταβιοτικά προϊόντα παράγονται και εντός του οργανισμού από τη ζύμωση πεπτικών συστατικών με τη δράση μικροβίων της χλωρίδας (2). Στα μεταβιοτικά συγκαταλέγονται πεπτιδογλυκάνες, πολυσακχαρίτες κυτταρικού τοιχώματος, επιφανειακές πρωτεΐνες, εκκρινόμενες πρωτεΐνες, νευροδιαβιβαστές, οργανικά οξέα, βακτηριοκίνες (5). Εμφανίζουν τα παρακάτω πλεονεκτήματα σε σχέση με τα προβιοτικά. Τα μεταβιοτικά δεν μεταφέρουν γονίδια. Είναι σταθερά σε ευρύ φάσμα θερμοκρασιών και pH και μπορούν να διαχωρισθούν σε μεμονωμένα συστατικά. Ο κίνδυνος ανάπτυξης λοιμώξεων σε παιδιά κάτω των πέντε ετών είναι πολύ μικρός (1) καθώς τα μεταβιοτικά αλληλεπιδρούν άμεσα με τα επιθηλιακά κύτταρα (2) και σε σύγκριση με τα προβιοτικά στερούνται μοριακών μοτίβων που σχετίζονται με τα μικρόβια (MAMPs) (35). Η βιομηχανική παραγωγή τους είναι εύκολη, όπως και η ενσωμάτωσή τους σε άλλα μέσα (6). Έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στη μειωμένη ή καθόλου αλληλεπίδρασή τους με συστατικά τροφίμων. Προσθήκη αυτών πριν τη θερμική επεξεργασία των τροφίμων εξασφαλίζει τη διατήρηση της δράσης τους. Λιγότερες απαιτήσεις κατά την αποθήκευση και μεταφορά τους, καθιστά ευκολότερη τη χορήγησή τους και παρατείνει τη διάρκεια ζωής τους, κάνοντας τα εύρηστα σε άτομα με ανοσοκαταστολή, αφού παράλληλα μπορούν να τροποποιούν τις βιολογικές αποκρίσεις. Οι μικροοργανισμοί από τους οποίους προέρχονται τα μεταβιοτικά εκτιθέμενοι σε παράγοντες που προκαλούν αλλοιώσεις, όπως βλάβη στην κυτταρική μεμβράνη ή το κυτταρικό τοίχωμα, αδρανοποίηση ενζύμων, διάσπαση νηματιδίων DNA, χάνουν τη βιωσιμότητά τους (3). Η απενεργοποίηση των προβιοτικών βακτηρίων επιτυγχάνεται με θερμική επεξεργασία, γάμμα ή υπεριώδη ακτινοβολία, υπερήχους, χημικές ουσίες όπως η φορμαλίνη. Η πρώτη μέθοδος επιλογής είναι

η θερμική επεξεργασία. Κάθε τρόπος απενεργοποίησης επιδρά διαφορετικά στα δομικά τους συστατικά και στη βιολογική τους δράση (2). Εφαρμογή θερμότητας σε προβιοτικά βακτήρια μπορεί να οδηγήσει σε μετουσίωση πρωτεϊνών, ενώ η ακτινοβολία σε μεταλλάξεις νουκλεϊκών οξέων (32).

### **Μικροβίωμα και ανοσοποιητικό**

Ως μικροβίωμα ορίζεται το πολύπλοκο οικοσύστημα μικροοργανισμών που περιλαμβάνει ιούς, πρωτόζωα, βακτήρια, μύκητες και ζουν στο ανθρώπινο σώμα. Σε αυτό περιλαμβάνονται 100 τρισεκατομμύρια μικρόβια, 10 φορές τα ανθρώπινα κύτταρα. Στο γαστρεντερικό σωλήνα βρίσκεται το 90% του μικροβιώματος. Τα κυριότερα βακτήρια του εντέρου είναι Bacteroides, Firmicutes, Actinobacteria, Methanobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia. Μάλιστα, το μικροβίωμα του εντέρου αποτελεί ένα είδος “δακτυλικού αποτυπώματος” αφού διαφέρει μεταξύ των ατόμων. Όταν τα διάφορα είδη του μικροβιώματος παύουν να ζουν αρμονικά, δηλαδή εμφανίζεται μειωμένη ποικιλομορφία και επικράτηση επιβλαβών, τότε δημιουργείται η λεγόμενη δυσβίωση, η οποία αποτελεί υπόβαθρο για την εκδήλωση ασθενειών (7). Η δυσβίωση του εντέρου προκαλείται από την επίδραση της διατροφής, των φαρμάκων, της γενετικής και των περιβαλλοντικών παραγόντων. Αποτέλεσμα της δυσβίωσης είναι τα βακτηριακά συστατικά από τον αυλό να διηθούνται στο στρώμα της βλέννας και να εισβάλλουν στο επιθήλιο. Η υγιής εντερική μικροχλωρίδα έχει ως επακόλουθο το υψηλότερο πάχος της βλεννογόνου στιβάδας. Σε αντίθεση, φτωχή βακτηριακή ποικιλομορφία και αριθμός βακτηριακών ειδών, καθιστούν τον οργανισμό επιρρεπή στην αντιμετώπιση διαταραχών της ομοιόστασής του (8). Ο εντερικός φραγμός είναι πολυστρωματικό σύστημα. Κυρίως αποτελείται από μία στιβάδα βλέννης παραγόμενη από κύλικά κύτταρα και από μονοστιβάδα επιθηλιακών κυττάρων. Η στιβάδα των επιθηλιακών κυττάρων σχηματίζει τον σφιχτό επιθηλιακό σύνδεσμο (TJ). Η διαταραχή της ομοιόστασης του εντερικού φραγμού οδηγεί σε μετατόπιση αλλεργιογόνων, παθογόνων και τοξινών από τον αυλό στο χόριο του βλεννογόνου. Από εκεί εισέρχονται στους μεσεντέριους λεμφαδένες και μπορούν να συνεχίσουν την πορεία τους στην κυκλοφορία και να διαδοθούν στα όργανα (9). Η δυσβίωση στο γαστρεντερικό έχει ως συνέπεια την εμφάνιση λεπτότερου στρώματος βλεννογόνου στιβάδας, αυξημένης εντερικής διαπερατότητας και μειωμένης έκφρασης βλεννίνης-2 (MUC-2). Το λεπτό έντερο αποτελείται από ένα στρώμα βλέννας ενώ το παχύ από δύο, την εξωτερική και την εσωτερική. Τα κύλικά κύτταρα στην εσωτερική στιβάδα εκκρίνουν MUC-2, πλούσια σε δισουλφιδικούς δεσμούς. Έρευνες έχουν αποδείξει ότι γενετική διαγραφή του γονιδίου που εκφράζει το MUC-2 συνδέεται με την ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου (CRC) (10).

Το ανοσοποιητικό σύστημα είναι σε θέση να αντιμετωπίσει οποιαδήποτε διαταραχή. Το ανοσοποιητικό σύστημα χωρίζεται σε έμφυτο και προσαρμοστικό. Το προσαρμοστικό αποτελείται από τα T και B λεμφοκύτταρα. Τα T και B κύτταρα εξειδικεύονται για συγκεκριμένα αντιγόνα. Στο έμφυτο σύστημα υπάρχουν οι υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (PRRs). Τα παθογόνα ενέχουν μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με παθογόνα (PAMPs). Τα PAMPs συνδέονται με τους PRRs, οι οποίοι υπάρχουν τόσο σε ανοσολογικά όσο και σε επιθηλιακά κύτταρα. Στην έμφυτη ανοσία συγκαταλέγονται



τα μακροφάγα, ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, οι φυσικοί δολοφόνοι, τα δενδριτικά κύτταρα (DCs), τα συμπληρώματα, οι κυτοκίνες, οι πρωτεΐνες οξείας φάσης. Στις κυτοκίνες ανήκουν η ιντερφερόνη, η ιντερλευκίνη, ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF), ο παράγοντας μετασχηματισμού ανάπτυξης (TGF) (1).

Το έμφυτο ανοσοποιητικό ενεργοποιείται και από τη διέγερση των υποδοχέων τύπου Toll (TLRs). Κάθε βακτηριακή δομή ενεργοποιεί έναν τύπο TLR. Για παράδειγμα ο TLR2 αναγνωρίζει πεπτιδογλυκάνη (PGN), λιποπρωτεΐνες, λιποτεϊχοϊκό οξύ (LTA). Οι λιποπολυσακχαρίτες (LPS) αναγνωρίζονται από τον TLR4. Ο TLR5 συνδέεται με φλαγκελίνη (κύριο συστατικό των μαστιγίων, επιφανειακή πρωτεΐνη). Βακτηριακό RNA συνδέεται με τους TLR3, TLR7, TLR8, ενώ το DNA με τον TLR9. Η θέση του TLR9 παίζει ρόλο στην ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών. Το TLR9 στη βασική πλευρική κυτταρική μεμβράνη στα επιθηλιακά εντερικά κύτταρα ενεργοποιεί τον NF-κΒ. Αυτό έχει αντίκτυπο στο σχηματισμό προφλεγμονωδών κυτοκινών (6). Οι μικροβιακοί μεταβολίτες παθογόνων όπως LPS, PGN, LTA, αναγνωρίζονται ως PAMPs. Μεταβολίτες που προέρχονται από ζύμωση διατροφικών παραγόντων με τη συμβολή μικροβίων όπως λιπαρά οξέα βραχείας αλυσού (SCFAs), αναγνωρίζονται ως μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με βλάβη (DAMPs). Τα PAMPs και τα DAMPs αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς PRRs. Στους PRRs ανήκουν οι TLRs. Μετά την πρόσδεση των PAMPs και των DAMPs στους TLRs, γίνεται σύνδεση με τους μυελοειδή παράγοντα διαφοροποίησης (MyD88) και προσαρμογέα που περιέχει περιοχή που επάγει την ιντερφερόνη-β (TRIF), οι οποίοι επάγουν σηματοδοτικά μονοπάτια ώστε να ενεργοποιηθούν οι μεταγραφικοί παράγοντες, πυρηνικός παράγοντας κάπα-ενισχυτή της ελαφριάς αλυσίδας της ενεργοποιημένης οδού των κυττάρων B (NF-κΒ), ενεργοποιημένες με μιτογόνο πρωτεϊνικές κινάσες (MAPKs) και ο ρυθμιστικός παράγοντας ιντερφερόνης (IRF). Η ενεργοποίηση αυτών ρυθμίζει την έκφραση χυμειοκινών, προφλεγμονωδών κυτοκινών και ιντερφερονών, με αποτέλεσμα την προστασία του οργανισμού (11). Η φλεγμονή είναι απαραίτητη για την απαλοιφή κατεστραμμένων κυττάρων και την εξάλειψη επιβλαβών ερεθισμάτων, καθώς και για την έναρξη αποκατάστασης των ιστών, διαδικασία που περιλαμβάνει μοριακούς μεσολαβητές και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Ωστόσο, όταν η φλεγμονώδης απάντηση γίνεται υπερβολική ή ανεξέλεγκτη, μπορεί να συμβάλλει στην εμφάνιση χρόνιων ασθενειών, ακόμη και στο θάνατο (12).

### **Εντερικό νευρικό σύστημα και Πνευμονογαστρικό νεύρο**

Το εντερικό νευρικό σύστημα (ENS) αποτελείται από ένα περίπλοκο δίκτυο γαγγλίων και ινών, το οποίο ανταποκρίνεται είτε άμεσα είτε έμμεσα σε μεταβολίτες προερχόμενους από την εντερική μικροχλωρίδα. Λαμβάνει πληροφορίες από το αυτόνομο νευρικό σύστημα (ANS) και μεταδίδει πίσω σε αυτό. Τα ανοσοκύτταρα του εντερικού βλενογόνου βρίσκονται κοντά στα νευρικά κύτταρα του ENS. Αυτό έχει ως συνέπεια τη μεταξύ τους αλληλεξάρτηση μέσω των εκκρινόμενων ορμονών, νευροδιαβιβαστών και κυτοκινών. Οι υποδοχείς των νευροπεπτιδίων που εκκρίνονται από τα εντερικά

νεύρα συνδέονται και με λεμφοκύτταρα. Σε χρόνια φλεγμονή συμβαίνει λειτουργική και δομική αναδιαμόρφωση τόσο του νευρικού όσο και του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι αλλαγές αυτές μέσω του άξονα εντέρου-εγκεφάλου επεκτείνονται στο αυτόνομο και κεντρικό νευρικό σύστημα (CNS). Η εντερική μικροχλωρίδα επηρεάζει τις αισθητικές και κινητικές λειτουργίες του εντέρου καθώς και την ανάπτυξη του ENS. Το ENS με τη σειρά του ρυθμίζοντας την κινητική λειτουργία επηρεάζει τη σύνθεση της μικροχλωρίδας. Η δυσβίωση οδηγεί στην ανάπτυξη σημάτων τα οποία κατευθυνόμενα στα εντερογλοιακά κύτταρα έχουν ως επακόλουθο τη νευροεκφύλιση στις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου (IBD) (13).

Το πνευμονογαστρικό νεύρο ενεργοποιείται από ενώσεις που προέρχονται από τα εντεροενδοκρινικά κύτταρα και την εντεροχρωμαφίνη όπως σωματοστατίνη, ισταμίνη, σεροτονίνη, χολοκυστοκινίνη. Υποδοχείς που ανιχνεύουν PAMPs όπως LPS, εκφράζονται στα εντεροενδοκρινικά κύτταρα. Ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων διεγείρει το πνευμονογαστρικό νεύρο. Το LPS μπορεί να ενεργοποιήσει απευθείας τις ίνες του πνευμονογαστρικού. TLRs υποδοχείς, ειδικά TLR2 και TLR4 εντοπίζονται τόσο στο ENS όσο και στο πνευμονογαστρικό νεύρο. Η διέγερση του πνευμονογαστρικού από TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, δηλαδή προφλεγμονωδών κυτοκινών, οι οποίες εκκρίνονται από τον εντερικό βλεννογόνο, οδηγεί στην απελευθέρωση ακετυλοχολίνης. Η σύνδεσή της με τους  $\alpha 7$  νικοτινικούς χολινεργικούς υποδοχείς οδηγεί σε αναστολή της απελευθέρωσης από τα μακροφάγα TNF- $\alpha$ , βελτιώνοντας έτσι την εντερική διαπερατότητα και τη δυσβίωση κατά τη διάρκεια της φλεγμονής σε IBD ασθενείς. Το πνευμονογαστρικό συμμετέχει και στα νευροψυχιατρικά συμπτώματα των IBD (4).

#### **Άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια**

Ο ενεργοποιημένος άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια (HPA), διεγείρει την έκκριση του παράγοντα απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης (CRF) από τον υποθάλαμο και συγκεκριμένα από τον παρακωλιακό πυρήνα (PVN). Ο CRF με τη σειρά του προκαλεί την απελευθέρωση αδρενοκορτικοτροπικής ορμόνης (ACTH) από την υπόφυση. Η ACTH διεγείρει την απελευθέρωση κορτιζόλης από τον φλοιό των επινεφριδίων, μίας ορμόνης κατασταλτικής του στρες (14). Στις IBD το ψυχολογικό στρες επανενεργοποιεί τη φλεγμονή. Πιο συγκεκριμένα, συμβαίνει μείωση της αντιφλεγμονώδους εκροής του πνευμονογαστρικού, διέγερση μαστοκυττάρων στην περιφέρεια και κεντρικά, ενεργοποίηση του HPA, αύξηση προφλεγμονώδους συμπαθητικής εκροής. Η έκκριση κορτιζόλης λόγω στρες οδηγεί στην απελευθέρωση κυτοκινών από το έντερο. Αυτό επηρεάζει αρνητικά τη σύνθεση της μικροχλωρίδας και την ομοιοστάση του επιθηλιακού φραγμού (4). Πράγματι, το στρες προκαλεί τη μετατόπιση βακτηρίων όπως *Lactobacillus spp.*, αυξάνει την έκκριση IgA, διευκολύνει την ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων όπως το *Escherichia coli* O157:H7 λόγω της δράσης κατεχολαμινών, μειώνει τη δραστηριότητα των γλουταμικών υποδοχέων NMDA και του σχετικού νευροτροφικού παράγοντα που προέρχεται από τον εγκέφαλο (BDNF). NMDA και BDNF συμμετέχουν στη νευροπλαστικότητα του εγκεφάλου απέναντι στο στρες (15). Η επιρροή της δυσβίωσης λόγω στρες στο CNS διαμεσολαβείται από τους TLR υποδοχείς, οδηγώντας στην ανάπτυξη νευρο-ανοσιακών αποκρίσεων. Σε ασθενείς με

IBS ο HPA άξονας υπερλειτουργεί. Το ψυχολογικό στρες οδηγεί σε μεγαλύτερη απελευθέρωση κορτικοστερόνης και προφλεγμονωδών κυτοκινών στον ορό, με αποτέλεσμα την αύξηση στη διαπερατότητα του εντερικού βλεννογόνου. Αύξηση των επιπέδων των TNF-α, IL-1β και μείωση των claudin-1, zonula occludens-1 (ZO-1), έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς που πάσχουν από σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS) και εμφανίζουν διαρροϊκά συμπτώματα (14).

### **Μηχανισμοί δράσης των πιο κοινά χρησιμοποιούμενων μεταβιοτικών**

Η δράση των **οργανικών οξέων** εξαρτάται από το pH. Σε χαμηλό pH μπορούν να διαπεράσουν τις υδρόφοβες βακτηριακές κυτταρικές μεμβράνες. Μέσα στο κύτταρο του βακτηρίου τα SCFAs διασπώνται δίνοντας πρωτόνια και ανιόντα. Όμως, το βακτηριακό κύτταρο λόγω του ουδέτερου pH του κυτταροπλάσματος προσπαθεί να εξάγει τα πλεονάζοντα πρωτόνια. Η διαδικασία αυτή όμως έχει ως επακόλουθο την εξάντληση της διαθέσιμης κυτταρικής ενέργειας. Με αυτόν τον τρόπο τα SCFAs εκτός της παρεμβολής τους στη δομή της βακτηριακής κυτταρικής μεμβράνης, αναστέλλουν τη μεταφορά θρεπτικών συστατικών και τη σύνθεση μακρομορίων (16). Τα SCFAs ρυθμίζουν επιγενετικά τη γονιδιακή έκφραση. Ενισχύουν την υπερακετυλίωση ιστόνης μέσω αναστολής των αποακετυλασών ιστόνης (HDACs). Συνδέονται με υποδοχείς συζευγμένους με πρωτεΐνη G όπως οι υποδοχείς ελεύθερου λιπαρού οξέος FFAR2 και FFAR3 οι οποίοι βρίσκονται τόσο στο CNS όσο και περιφερικά όπως στο γαστρεντερικό σύστημα (ΓΕΣ). Με αυτόν τον τρόπο τα SCFAs ρυθμίζουν την ενεργοποίηση, τη μετανάστευση και τη διαφοροποίηση μονοκυττάρων, μακροφάγων, ουδετερόφιλων, DCs, συμμετέχοντας έτσι στις ανοσολογικές εντερικές αποκρίσεις (2).

Τα **χολικά οξέα** δρουν μέσω της σύνδεσής τους στον πυρηνικό υποδοχέα φαρνεσοειδούς (FXR) και τον TGR5. Η ενεργοποίηση του FXR προάγει την έκφραση της IL-18 και της συνθάσης νιτρικού οξειδίου (iNOS), τα οποία λειτουργούν ως αντιμικροβιακοί παράγοντες. Η ενεργοποίηση του TGR5 ρυθμίζει τη λειτουργία του εντερικού λεμφικού ιστού. Τα χολικά οξέα συνδεδεμένα με τους TGR5 και FXR υποδοχείς, προστατεύουν το ήπαρ αλλά και τους υπόλοιπους ιστούς από την τοξική δράση τους αλλά και διατηρώντας τη μεταβολική ομοιόσταση. Τα χολικά οξέα λοιπόν, συμμετέχουν σε φλεγμονώδεις αποκρίσεις (17).

Η **L-τροπτοφάνη (TRP)** λαμβάνεται κυρίως από το διατροφή. Στο έντερο, η TRP μεταβολίζεται μέσω τριών οδών. Της σεροτονίνης (5-HT), της κυνουρενίνης (KYN) και μέσω μίας μικροβιακής που οδηγεί στην παραγωγή ινδόλης και παραγώγων της. Στις IBD ο μεταβολισμός της TRP είναι αυξημένος. Αυτό οδηγεί σε ανώμαλο μεταβολισμό των αμινοξέων με αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων τους. Η δυσβίωση στην εντερική χλωρίδα οδηγεί σε μείωση της αναλογίας KYN/ TRP. Από την οδό της KYN παράγονται παραπροϊόντα όπως πικολινικό οξύ (PA), κινολινικό οξύ (QA), κυνουρενικό οξύ (KynA). Η οδός αυτή συναντάται τόσο στο CNS όσο και στο περιφερικό νευρικό σύστημα (PNS). Το QA είναι αγωνιστής του NMDA υποδοχέα. Το KynA είναι ένας ανταγωνιστικός ανταγωνιστής του NMDA. Το KynA προστατεύει τους νευρώνες από τη δράση του γλουταμικού, ενώ το QA λειτουργεί ως νευροτοξικό. Η ενεργοποίηση της KYN οδού ενισχύει την Th2 απόκριση και αναστέλλει

την Th1, μειώνοντας τα επίπεδα των προφλεγμονωδών κυτοκινών. Το KynA αναστέλλει την οξειδάση της ζανθίνης, μειώνοντας την παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS). Οι ενεργοποιημένοι NMDA εντερικοί υποδοχείς διατηρούν το νιτρικό οξειδωτικό στρες (NOS) και το ROS. Χαμηλή αναλογία KynA/ QA συμβάλλει στην ανάπτυξη καταθλιπτικών διαταραχών. Οι μεταβολίτες της τρυπτοφάνης συμβάλλουν στην ομαλή λειτουργία του εντερικού βλεννογόνου. Συνδέονται στον υποδοχέα αρυλ-υδρογονάνθρακα (AhR) με αποτέλεσμα την παραγωγή IL-10 και IL-22. Οι εν λόγω ιντερλευκίνες ωθούν την παραγωγή αντιμικροβιακών πεπτιδίων (AMPs) και πεπτιδίων προσκόλλησης (ε-καντερίνη, β-κατενίνη), καθώς και πρωτεϊνών σφικτής σύνδεσης (ZO-1, occludin). Επιπλέον μειώνουν τη φλεγμονή (18).

Το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων γαλακτικού οξέος (LAB) αποτελείται από πολυμερή γλυκοπεπτιδίων που σχηματίζουν την **πεπτιδογλυκάνη**. Κάθε γλυκοπεπτίδιο αποτελείται από επαναλαμβανόμενες δομές N-ακετυλομουραμικού οξέος και N-ακετυλογλυκοζαμίνης, συνδεδεμένες με 1,4 β-γλυκοσιδικούς δεσμούς. Το N-ακετυλομουραμικό οξύ συνδέεται με πενταπεπτίδιο αμινοξέων το οποίο με τη σειρά του συνδέεται με πενταπεπτίδιο γλυκίνης. Η πεπτιδογλυκάνη συνδέεται με πολυμερή τειχοϊκού και τειχουρονικού οξέος. Τροποποιήσεις στην πεπτιδογλυκάνη κατά τη βιοσύνθεσή της μπορούν να μεταβάλλουν την υδροφοβικότητα, την αντίσταση στη λυσοζύμη, την ευαισθησία στην αυτόλυση (19). Η πεπτιδογλυκάνη κάθε στελέχους έχει μοναδική δομή, χαρακτηριστική για το στέλεχος μέσω τροποποιήσεων κατά τη βιοσύνθεσή της, αμίδωση, ακετυλίωση, γλυκοσυλίωση, προσδίδοντας της έτσι ιδιότητες που οδηγούν σε ειδικές για το στέλεχος ανοσορρυθμιστικές ικανότητες. Η πεπτιδογλυκάνη περιέχει αλληλουχίες μουροπεπτιδίου. Οι αλληλουχίες αυτές αναγνωρίζονται από πρωτεΐνες που ενέχουν την περιοχή ολιγομερισμού που δεσμεύει νουκλεοτίδια, οι ονομαζόμενες NOD (20). Το NOD2 αναγνωρίζει μουραμυλοδιπεπτίδιο (MDP). Μέσω ενεργοποίησης του NOD1 προκαλείται αντίσταση στην ινσουλίνη. Η ενεργοποίηση του NOD2 μειώνει τη φλεγμονή και προστατεύει από αντίσταση στην ινσουλίνη. Και το NOD1 και το NOD2 ασκούν τη σηματοδοτική δράση τους ενδοκυτταρικά μέσω της σύζευξής τους με τον υποδοχέα RIPK2. Η αλληλεπίδραση LPS-NOD2-RIPK2 σε μη αιμοποιητικά κύτταρα, οδηγεί σε ευγλυκαιμία και μείωση της φλεγμονής (21). Η αλληλεπίδραση όμως του NOD1 με LPS στα αιμοποιητικά κύτταρα οδήγησε σε αντίσταση στην ινσουλίνη. Σε πειραματική μελέτη φάνηκε ότι η εξάντληση των NOD1 και NOD2 απέτρεψε την πρόκληση αθηροσκλήρυνσης μέσω των LDL υποδοχέων. Το μουραμυλοδιπεπτίδιο (MDP) ενεργοποιεί μεταξύ άλλων και υποδοχείς που μοιάζουν με την περιοχή ολιγομερισμού που δεσμεύουν νουκλεοτίδια (NLR) και συγκεκριμένα την πρωτεΐνη που περιέχει περιοχή πλούσια σε λευκίνη (NLRP1). Τα NLR ανάλογα με την τερματική τους αλληλουχία κινητοποιούν τέσσερις οδούς. Της φλεγμονής, της αυτοφαγίας, της μεταγραφής, της μεταγωγής σήματος. Τα NLR αναγνωρίζουν υποκαταστάτες όπως πεπτιδογλυκάνη, ιικό RNA, φλαγκελίνη (22). Η ενεργοποίηση του NLRP1 ωθεί το σχηματισμό συμπλέγματος πρωτεϊνών, το φλεγμονώδες NLRP1. Το σύμπλεγμα αυτό εκφράζεται σε κύτταρα τόσο

της προσαρμοστικής όσο και της έμφυτης ανοσίας. Για παράδειγμα εκφράζεται σε DCs, σε μακροφάγα, T, επιθηλιακά κύτταρα. Στη συνέχεια ενεργοποιείται η κασπάση-1 η οποία ωθεί την έκκριση IL-1β, IL-18, προφλεγμονωδών κυτοκινών (23).

Το **τεϊχοϊκό οξύ (TA)** εκτός από την ομοιοπολική σύνδεσή του με την πεπτιδογλυκάνη του κυτταρικού τοιχώματος, συνδέεται και μέσω λιπιδίων με την κυτταρική μεμβράνη ως LTA (24). Τα TA είναι γλυκοπολυμερή που αποτελούνται από μονάδες πολυόλης συνδεδεμένες με φωσφοδιεστερικό δεσμό. Τα οξέα αυτά είτε είναι αγκυροβολημένα στη μεμβράνη μέσω γλυκολιπιδίου (LTA οξέα) είτε με ομοιοπολική σύνδεση (WTA). Το LTA είναι αμφίφιλο. Η υδρόφοβη περιοχή είναι το γλυκολιπίδιο ενώ η υδρόφιλη αποτελείται από πολυμερές φωσφορικής γλυκερίνης υποκατεστημένης με D-αλανίνη ή σάκχαρα. Το LTA αναγνωρίζεται από τον TLR-2 υποδοχέα στην επιφάνεια των εντεροκυττάρων (25).

Τα **εξοκυτταρικά κυστίδια (EVs)** των προβιοτικών βακτηρίων είναι σφαιρικά λιπίδια διπλής στιβάδας. Από τα Gram (-) βακτήρια εκκρίνονται τα λεγόμενα κυστίδια εξωτερικής μεμβράνης (OMVs) και ενώ από τα Gram (+) τα κυστίδια μεμβράνης (MVs). Τα κυστίδια αυτά μεταφέρουν ενώσεις όπως πολυσακχαρίτες, νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες, φωσφολιπίδια, γλυκολιπίδια. Ακόμη, παίρνουν μέρος σε σηματοδοτικά μονοπάτια (26).

Οι πολυσακχαρίτες κυτταρικού τοιχώματος ονομάζονται και **εξωπολυσακχαρίτες (EPS)**. Οι EPS δρουν προστατευτικά για τα βακτήρια και καθιστούν εφικτή την πρόσφυση μορίων (24). Ποικίλουν ως προς το βαθμό διακλάδωσης. Μπορεί να είναι γραμμικά μόρια ή διακλαδισμένα. Με βάση τη σύνθεση του μονοσακχαρίτη ταξινομούνται σε ομοπολυσακχαρίτες πχ κυτταρίνη και δεξτράνη και ετεροπολυσακχαρίτες. Το EPS είναι χαρακτηριστικό του στελέχους και η σύνθεσή του εξαρτάται από παράγοντες όπως το μέσο καλλιέργειας, το pH, η θερμοκρασία, η ηλικία του κυττάρου (27).

Τα **βιοεπιφανειοδραστικά (BS)** είναι αμφίφιλα μόρια, εντοπίζονται στο κυτταρικό τοίχωμα ή εξοκυττάρια. Η δομή τους ποικίλει από ουδέτερα λιπίδια, φωσφολιπίδια, λιπαρά οξέα, λιποπεπτίδια, γλυκολιπίδια, πολυμερή, σύμπλοκα πρωτεΐνης –πολυσακχαρίτη-λιπιδίου. Χαρακτηρίζονται από μειωμένη τοξικότητα, είναι βιοδιασπώμενα και παράγονται με φυσικό τρόπο. Τα αμφίφιλα BS μόρια λειτουργούν ως γαλακτωματοποιητές μειώνοντας την επιφανειακή τάση. Αυτή η ιδιότητά τους συμβάλλει στη διάσπαση ή στην πρόληψη σχηματισμού βιοφίλμ από παθογόνα, αλλά και παρεμποδίζοντάς τα να συνδεθούν με το βιοφίλμ. Τα BS μέσω των υδρόφοβων τμημάτων τους αλληλοεπιδρούν με τα λιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης (2).

Τα **αντιμικροβιακά πεπτίδια (AMPs)** έχουν μήκος 12-50 αμινοξέα. Μπορούν να αναστείλουν την ενδοσωμική οξίνιση εμποδίζοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό των ιών. Τα ριβοσωμικά βακτηριακά πεπτίδια ασκούν τη δράση τους με τους εξής τρόπους. Δημιουργούν οπές στο κυτταρικό τοίχωμα με αποτέλεσμα τη διαρροή κυτταρικού περιεχομένου και την πρόκληση βλάβης στα ενδοκυτταρικά συστατικά. Η ενεργοποίηση υδρολασών καταστρέφει το κυτταρικό τοίχωμα. Η δράση τους επί της κυτταρικής μεμβράνης μέσω αύξησης της οξύτητας αυτής έχει ως συνέπεια τη διάρρηξη αυτής. Αυτό

έχει ως επακόλουθο τη διάσπαση του κυτταροπλάσματος και τη συσσώρευση του πυρήνα. Οι **βακτηριοκίνες** είναι μικρά ριβοσωμικά πεπτίδια με βακτηριοστατικές και βακτηριοκτόνες ιδιότητες. Παράγονται και από Gram (-) και από Gram (+) βακτήρια. Οι βακτηριοκίνες των LAB είναι κατιονικά πεπτίδια τα οποία σχηματίζουν πόρους στις κυτταρικές μεμβράνες, προκαλώντας τη διαρροή ενδοκυτταρικών συστατικών.

Οι **πρωτεΐνες παράγοντα προαγωγής συσσωμάτωσης (APF)** εκκρίνονται από είδη *Lactobacillus*. Οι APF ωθούν τη συσσωμάτωση με κοινά ή παθογόνα βακτήρια ή τη συσσωμάτωση με το ίδιο το στέλεχος. Αυτό προκαλεί αναστολή της προσκόλλησης των παθογόνων στα γαστρεντερικά κύτταρα είτε μέσω συσσωμάτωσής τους με αυτά είτε μέσω ανταγωνιστικού αποκλεισμού τους.

Οι **p40 και p75** είναι μουραμιδάσες, διασπούν δηλαδή την πεπτιδογλυκάνη. Τα μοριακά τους μεγέθη είναι 40 και 75 kDa αντίστοιχα (16).

Οι **πρωτεΐνες κυτταρικές επιφάνειας** είναι συνδεδεμένες είτε ομοιοπολικά είτε όχι ετεροπολικά. Σε αυτές συγκαταλέγονται οι πρωτεΐνες **LPXTG, οι pili, οι S-layer, οι moonlighting**.

Οι **moonlighting πρωτεΐνες** περιλαμβάνουν πρωτεΐνες μοριακούς συνοδούς, ριβοσωμικές πρωτεΐνες, μεταβολικά ένζυμα, παράγοντες μεταφραστικής επιμήκυνσης. Οι πρωτεΐνες αυτές εντοπίζονται στα είδη *L.jensenii, L.reuteri, L.plantarum, L.crispatus, L.fermentum*. Ενδεικτικά οι πρωτεΐνες GAPDH και ενολάση (μεταβολικά ένζυμα) και EF-Tu (παράγοντας επιμήκυνσης), δεσμεύουν το σύστημα πλασμινογόνο/πλασμίνη. Με αυτόν τον τρόπο εμποδίζουν την εκμετάλλευσή του από γαστρεντερικά παθογόνα όπως *Helicobacter pylori* και *Salmonella sp.*, τα οποία εκφράζουν υποδοχείς για το πλασμινογόνο.

Οι **πρωτεΐνες pili** είναι επιμήκεις δομές που προεξέχουν από τα βακτηριακά κύτταρα. Οι pili συνδέονται στον εντερικό βλεννογόνο προωθώντας έτσι την παραμονή των *Lactobacillus* στο γαστρεντερικό σύστημα.

Τα LAB εμφανίζουν στην επιφάνειά τους επίστρωση από κρυσταλλική γλυκοπρωτεΐνη, την **S-layer**. Οι S-layer, πρωτεΐνες στιβάδας S, προσδέονται με μη ομοιοπολικούς δεσμούς στην πεπτιδογλυκάνη. Στο *L.kefiri* και *L.buchneri* οι S-layer είναι γλυκοζυλιωμένες. Στο εντερικό επιθήλιο αναστέλλουν την προσκόλληση των παθογόνων μέσω ανταγωνιστικής δέσμευσης αυτού.

Οι **πρωτεΐνες LPXTG** είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένες με την πεπτιδογλυκάνη. Περιέχουν C-τελικό άκρο και συνδέονται με το κυτταρικό τοίχωμα μέσω σορτάσης A (SrtA) ταξινόμησης. Πιο συγκεκριμένα οι LPXTG αποτελούνται από Leu-Pro-anything-Thr-Gly, η SrtA αναγνωρίζει το C-τερματικό σήμα και διασπά μεταξύ Thr και Gly για πρόσδεση πρωτεΐνης στο κυτταρικό τοίχωμα. Οι LPXTG λαμβάνονται κυρίως από τα *L.plantarum, L.johnsonii NCC533, L.sakei 23K, L.salivarius UCC118* και συμμετέχουν στη προσκόλληση των βακτηρίων. Συγκεκριμένα συνδέονται με βλέννα, κολλαγόνο, ινονεκτίνη (16).

## Εφαρμογές μεταβιοτικών σε διαταραχές της ομοιόστασης

### Φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου

Υπό φυσιολογικές συνθήκες ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός (BBB), επιτρέπει την είσοδο σε χολικά οξέα, SCFAs, κυνουρενίνες, τρυπτοφάνη. Τα Bacteroides και Firmicutes κυρίως βακτήρια παράγουν SCFAs στο κόλον. Τα SCFAs ωθούν την απελευθέρωση από το επιθήλιο νευροενδοκρινικών παραγόντων. Για παράδειγμα από τα εντεροενδοκρινικά κύτταρα L απελευθερώνονται το πεπτίδιο τυροσίνη τυροσίνη (PYY), πεπτίδιο 1 τύπου γλυκαγόνης (GLP-1) και από την εντεροχρωμαφίνη σεροτονίνη (5-HT). Οι IBD συσχετίζονται με μειωμένα βακτήρια που παράγουν SCFAs όπως *Roseburia intestinalis*, *Faecalibacterium prausnitzii*. Επιπλέον, είναι μειωμένη η έκφραση του γονιδίου του μεταφορέα βουτυρικού MCT1. Αυτό συνεπάγεται μειωμένη έκφραση των γονιδίων που μεταβολίζουν SCFAs. Σε εγκεφάλους αρουραίων, η έγχυση βουτυρικού οξέος αύξησε τον BDNF. Η έγχυση προπιονικού και οξικού ρύθμισε τα επίπεδα των κατεχολαμινών, του γλουταμικού και του γ-αμινο-βουτυρικού οξέος (GABA), ρυθμίζοντας έτσι τις συναισθηματικές διαταραχές. Παραγωγή GLP-1, PYY από τα ενδοκρινικά κύτταρα του παχέος εντέρου, ρυθμίζει έμμεσα τις διαταραχές διάθεσης (16). Τα επίπεδα του GABA και του γλουταμινικού στον ιππόκαμπο είναι μειωμένα. Κύριοι υποδοχείς του γλουταμινικού είναι οι NMDA και οι iGluRs ινотροπικοί υποδοχείς, η ενεργοποίηση των οποίων συμμετέχει στη συναπτική πλαστικότητα. Υποδραστικότητα αυτών οδηγεί σε νευροπαθολογικές διαταραχές. Μειωμένα επίπεδα GABA στον εγκέφαλο συσχετίζονται με κατάθλιψη και αγχώδεις διαταραχές (4). Το *Faecalibacterium prausnitzii* ανήκει στην κλάση των Clostridia. Παράγει SCFAs και προάγει την παραγωγή της αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-10. Ασθενείς με νόσο του Crohn (CD) οι οποίοι είχαν μειωμένα επίπεδα *Faecalibacterium prausnitzii*, εμφάνισαν υποτροπή μετά από εκτομή του εντέρου. Η υποτροπή συσχετίστηκε επιπλέον με αυξημένα επίπεδα βακτηρίων της οικογένειας Enterobacteriaceae. Σε ασθενείς με IBD όπως CD και ελκώδη κολίτιδα (UC), η σύνθεση της μικροχλωρίδας είναι αλλοιωμένη. Ο διαμεσολαβούμενος φαύλος κύκλος φλεγμονής-οξειδωτικού στρες ευνοεί την ανάπτυξη βακτηρίων όπως *Ruminococcus gnavus*, τα οποία είναι προαιρετικά αναερόβια. Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής παράγονται μικρά μόρια τα οποία είναι δέκτες ηλεκτρονίων. Τα μόρια αυτά συμβάλλουν στην ανάπτυξη αναερόβιων μικροοργανισμών. Οι IL-10, IL-35, IL-23 και ο TGF-β, συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία της IBD. Η IL-10 παράγεται από τα T ρυθμιστικά (Treg) λεμφοκύτταρα. Χαμηλά επίπεδα IL-10 έχουν ως αποτέλεσμα την ωρίμανση των DCs και τη διέγερση της Th1 ανοσιακής απόκρισης. Η παραγωγή TGF-β οδηγεί στην ανάπτυξη ανοχής στην κολίτιδα. NLR και TLR υποδοχείς συμμετέχουν στην έμφυτη ανοσία και επομένως στην ανάπτυξη ή όχι IBD. Τα τρία πρώτα χρόνια της ζωής είναι σημαντικά για την ανάπτυξη σταθερούς και υγιούς μικροχλωρίδας. Έκθεση σε παθογόνα μικρόβια στην πρώιμη ηλικία μπορεί να οδηγήσει στη μετατόπισή τους από το έντερο στον εγκέφαλο με επακόλουθο τη δημιουργία νευροαναπτυξιακών διαταραχών. Η διαβίωση σε περιβάλλον με αυξημένη απολύμανση, η καισαρική τομή, η συχνή χρήση αντιβιοτικών, η διατροφή με φόρμουλα, μπορούν να συμβάλλουν στην ανάπτυξη IBD στα παιδιά. Επιπλέον, η διαταραγμένη μικροβιακή χλωρίδα κατά τη βρεφική και παιδική ηλικία, μπορεί να έχει αντίκτυπο στην

ενήλικη ζωή. Η δυσβίωση κατά την πρώιμη ηλικία σχετίζεται με τον σπλαχνικό πόνο κατά την ενήλικη ζωή. Βρέθηκε σε ποντικούς ότι η σπλαχνική υπερευαισθησία συνδέεται με αύξηση των TLRs υποδοχέων και των TNF- $\alpha$ , IL-6. Η φλεγμονή χαμηλού βαθμού ωθεί την απελευθέρωση κυτοκινών, προστανοειδών, νευροπεπτιδίων, τα οποία ευαισθητοποιούν στα προσαγωγά νεύρα των σπλάχνων τις αισθητικές απολήξεις, οδηγώντας έτσι σε σπλαχνική υπερευαισθησία. Σε ασθενείς με IBD τα επίπεδα των χολικών οξέων στον ορό και τα κόπρανα είναι μειωμένα. Στον άξονα εντέρου-εγκεφάλου μετάδοση μέσω NMDA συμμετέχει στην επεξεργασία του μηνύματος του πόνου από τους προσαγωγούς νευρώνες, οδηγώντας στην εμφάνιση χρόνιας σπλαχνικής υπερευαισθησίας σε πάσχοντες από IBD. Οι μεταβολές της μικροχλωρίδας σε ασθενείς με IBD ευνοεί την ενεργοποίηση της KYN οδού η οποία εμφανίζει τόσο προστατευτικά όσο και βλαπτικά αποτελέσματα λόγω των παραγόμενων προϊόντων (28).

Μελετήθηκε η επίδραση του **αδρανοποιημένου με θερμότητα Lactobacillus casei DKG6F** στα συμπτώματα του συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου (IBS). Σε αρσενικούς αρουραίους Wistar που χορηγήθηκε το συγκεκριμένο μεταβιοτικό, μία δόση 500μL ημερησίως ( $1 \times 10^{11}$  CFU), η συνοχή κοπράνων βελτιώθηκε. Μετρήθηκαν στον ορό οι τιμές της κορτικοστερόνης, των πρωτεϊνών στενής σύνδεσης, των φλεγμονωδών κυτοκινών. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των επιπέδων της κορτικοστερόνης, των προφλεγμονωδών κυτοκινών και αύξηση των πρωτεϊνών στενής σύνδεσης. Οι μικροβιακοί μεταβολίτες διαπερνούν ευκολότερα τον εντερικό βλεννογονικό φραγμό και έτσι διεγείρουν τόσα τα επιθηλιακά κύτταρα όσο και τα μακροφάγα. Με αυτόν τον τρόπο ρυθμίζουν την ανοσία και μειώνουν την εντερική διαπερατότητα (29).

Η **πεπτιδογλυκάνη του κυτταρικού τοιχώματος των L.casei, L.johnsonii JCM 2012 και L. plantarum ATCC 14917** ανέστειλε την παραγωγή IL-12, συμβάλλοντας στη μείωση εμφάνισης φλεγμονωδών παθήσεων του εντέρου. Η **πεπτιδογλυκάνη από το L.salivarius ATCC Ls33** χορηγούμενη σε ποντίκια που έπασχαν από χημικά προκαλούμενη κολίτιδα (προκαλούμενη από TNBS), μέσω της σύνδεσής της στο NOD2 διέγειρε τα DC και τα T-κύτταρα. Επίσης αύξησε την παραγωγή της αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-10.

Τα **EVs από Akkermansia muciniphila και Escherichia coli** in vitro μείωσαν την εντερική διαπερατότητα. In vivo μελέτες σε ποντίκια έδειξαν πιθανή προστατευτική δράση έναντι της UC. Χρειάζονται όμως κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους προκειμένου να προσδιορισθεί η ασφάλεια και το αν είναι εφικτό τα EVs να αποτελέσουν θεραπευτικό μέσο για τον άνθρωπο (49).

Μελετήθηκε η επίδραση του **νεκρού από θερμότητα Lactobacillus acidophilus LB** σε άτομα μέσης ηλικίας 53,4 που υπέφεραν από διάρροια λόγω IBD. Αν και δεν υπήρξε ομάδα ελέγχου, ύστερα από ένα μήνα κατανάλωσής του ο πόνος και το φούσκωμα μειώθηκαν και η ποιότητα ζωής βελτιώθηκε (32).

Γενικότερα, χρειάζεται η διεξαγωγή περισσότερων κλινικών μελετών μεγάλης κλίμακας ώστε να αξιολογηθεί εκτενώς η επίδραση των θεραπειών που βασίζονται στα μεταβιοτικά στη βελτίωση των IBD (28).



### Άλλες φλεγμονώδεις διαταραχές

Τα βακτήρια γαλακτικού οξέος (LAB), εκκρίνουν εξωπολυσακχαρίτη (EPS). Ο EPS που απομονώθηκε από το *Lactobacillus plantarum* L-14, αποτελείται κυρίως από γλυκόζη. Σε κύτταρα μακροφάγου ποντικού RAW 264,7 προκλήθηκε φλεγμονή μέσω χορήγησης λιποπολυσακχαρίτη (LPS). Ο LPS αποτελεί συστατικό της εξωτερικής μεμβράνης των Gram (-) βακτηρίων. Όταν τα Gram (-) βακτηριακά κύτταρα λύνονται, το LPS συνδέεται με τον TLR4 στα κύτταρα ξενιστές, ενεργοποιώντας έτσι τη φλεγμονώδη απόκριση. Η αντίδραση αυτή μπορεί να προκαλέσει πυρετό, διάρροια, καρδιακές δυσλειτουργίες, ακόμη και θάνατο. Η επεξεργασία των κυττάρων μακροφάγου με EPS κατέστειλε τη φλεγμονή. Αυτό επιτεύχθηκε μέσω αναστολής της έκφρασης του TLR4, παρεμποδίζοντας έτσι την αλληλεπίδρασή του με τον LPS. Η ενεργοποίηση του TLR4 διεγείρει την MAPK και τον NF-kB, προάγοντας έτσι τη γονιδιακή έκφραση των φλεγμονωδών μεσολαβητών κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2), ιντερλευκίνη-6 (IL-6), παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (TNF-α), IL-1β. Το EPS ανέστειλε την επαγόμενη από LPS φωσφορυλίωση και μετατόπιση στον πυρήνα του NF-kB όπως και την επαγόμενη από LPS φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών της οικογένειας MAPK, N-τερματική κινάση c-Jun (JNK), εξωκυτταρική κινάση ρυθμιζόμενη από σήμα (ERK), p38. Το οξειδωτικό στρες καταστάληκε μέσω της υπορρύθμισης της έκφρασης της επαγωγίσιμης iNOS. Η έκφραση των αντιοξειδωτικών δεικτών NFR2/HO-1 (παράγοντας 2 που σχετίζεται με τον πυρηνικό παράγοντα E2/υδροξυ-οξυγενάση 1) ενισχύθηκε. Επιπλέον, το EPS ανέστειλε την επαγόμενη από LPS έκφραση του MyD88. Η σηματοδότηση TLR4 χωρίζεται σε δύο οδούς. Την επαγόμενη από το MyD88 διαδρομή και την εξαρτώμενη από τον TRIF, ρυθμίζοντας έτσι φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Δυσρύθμιση του TLR4 οδηγεί σε βακτηριακές λοιμώξεις, άσθμα, καρδιαγγειακές παθήσεις, μεταβολικό σύνδρομο, αυτοάνοσα νοσήματα, σχιζοφρένεια.

Σε ασθενείς με Αλτσχάιμερ, βρέθηκε ότι στους νευρώνες του εγκεφάλου τους, χορηγούμενο LPS, συσσωρεύτηκε και ανέστειλε την ανάγνωση πληροφοριών ώστε να εξασφαλισθεί η ομοιόσταση της εγκεφαλικής λειτουργίας, οδηγώντας σε φλεγμονώδη εκφυλισμό των νευρογλοιακών κυττάρων. Μάλιστα, ο διαμεσολαβούμενος TNF-α, διεγείρει την ανάπτυξη καταθλιπτικών διαταραχών.

Στη βλάβη επαναιμάτωσης κατά την καρδιακή ισχαιμία, η IL-1β είναι η κύρια κυτοκίνη που συμμετέχει στη βλάβη. Η προκαλούμενη από IL-1β, IL-6, TNF-α, δυσλειτουργία των διαύλων καλίου και ασβεστίου, μπορεί να οδηγήσει σε επικίνδυνες για τη ζωή κοιλιακές αρρυθμίες. Η ένεση με μονοκλωνικά αντισώματα αντι-IL-1β και αντι-TNF-α, μπορεί να μειώσει τα καρδιαγγειακά συμβάντα και τα καταθλιπτικά συμπτώματα, αλλά συνδέεται με ανεπιθύμητες ενέργειες όπως αντίδραση στο σημείο της ένεσης και λοιμώξεις. Αποδείχθηκε ότι EPS, εκτός από την αναστολή της έκκρισης προφλεγμονωδών μεσολαβητών, δεν προκάλεσε κυτταροτοξικότητα σε μακροφάγα ποντικού, προωθώντας έτσι την ανοσοτροποποιητική δράση τους.

Κατά την ιογενή λοίμωξη, οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες υπερπαραγονται. Για παράδειγμα, η συνδεδεμένη γλυκοπρωτεΐνη του Έμπολα με τον TLR4, ενεργοποιεί τις σηματοδοτικές οδούς MAPK και

NF-kB. Το EPS λοιπόν, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε ιογενείς λοιμώξεις. Με EPS που απομονώθηκε από το *Lactobacillus delbrueckii* επεξεργάστηκαν εντερικά επιθηλιακά κύτταρα χοίρου. Αποδείχθηκε ότι το EPS ανέστειλε τη φλεγμονώδη απόκριση που προκαλείται *Escherichia coli* μέσω της οδού της ανασταλτικής IκB κινάσης. Η δράση της IκB είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση των μελών της οικογένειας των πυρηνικών παραγόντων μεταγραφής NF-kB, οι οποίοι παίζουν ουσιαστικό ρόλο στην ανοσορρύθμιση των λεμφοκυττάρων. Ωστόσο, χρειάζονται περισσότερες μελέτες.

EPS από *L.rhamnosus RW-9595M* προκάλεσε αύξηση της IL-10 σε μακροφάγους και μείωση ή εξάλειψη των TNF-α, IL-6, IL-12, προκαλώντας ανοσοκαταστολή. Σε επιθηλιακά εντερικά κύτταρα χοίρου μολυσμένα με *E. coli*, EPS από *L.plantarum 14*, μείωσε την παραγωγή των IL-6, IL-8, προφλεγμονωδών κυτοκινών και της χυμιοκίνης μονοκυτταρική-χυμιοεγκυστική πρωτεΐνη-1 (MCP-1) η οποία συμβάλλει στη μετανάστευση και διήθηση μονοκυττάρων και μακροφάγων.

Δεν υπήρξε δόσοεξαρτώμενη σχέση στις ανασταλτικές δράσεις του EPS. Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν από 50 έως 200 μg/ml. Είναι απαραίτητο να επιβεβαιωθεί εάν οι δράσεις του μπορούν να ασκηθούν *in vivo* (1).

Μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα του ενδοκυτταρικού κλάσματος προερχόμενου από *Lactobacillus casei CRL431, IC-431*. Σε εντερικό ιστό χοίρου οξειδωτικό στρες προκλήθηκε από μηχανική καταπόνηση, όπως συμβαίνει στις χειρουργικές επεμβάσεις. Η ανεξέλεγκτη βιολογική παραγωγή ROS, κυρίως H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, προάγει τη βλάβη των λιπιδίων στα κύτταρα με σχηματισμό μηλονυλοδιαλδεύδης (MDA), το οποίο αποτελεί το πιο μεταλλαξιγόνο προϊόν από υπεροξειδωση λιπιδίων. Το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> μπορεί να δράσει ως μοριακός αισθητήρας που ρυθμίζει τη δραστηριότητα των μεταγραφικών παραγόντων σε κύτταρα θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένου του NFR2. Το IC-431 προάγοντας την έκφραση αντιοξειδωτικών ενζύμων, διατήρησε χαμηλά επίπεδα ROS. Απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να αποσαφηνισθούν οι υπεύθυνοι για τη δράση μεταβολίτες του IC-431 (30).

Η δυσβίωση στη μητρική μικροχλωρίδα προκαλεί διαταραχή τόσο στις μητρικές όσο και στις εμβρυικές μεμβράνες, μέσω της διέγερσης φλεγμονωδών κυτοκινών. Η διαδικασία αυτή οδηγεί στον πρόωρο τοκετό (PTB). LPS παραγόμενο από *Helicobacter pylori*, *Salmonella enterica* και *typhimurium*, *Shigella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Vibrio cholera*, αυξάνει την έκφραση του GPR43 στην εμβρυική μεμβράνη. SCFAs παραγόμενα από LAB, μέσω σύνδεσής τους με τους υποδοχείς GPR41 και GPR43 στις εμβρυικές μεμβράνες, καταστέλλουν τη φλεγμονώδη απόκριση και επομένως την πρόκληση PTB (31).

### Συναισθηματικό στρες

Τα βακτήρια *Lactobacillus helveticus MCC1848* υπέστησαν θερμική επεξεργασία προκειμένου να θανατωθούν. Σε ποντίκια που έπασχαν από υποχρόνιο και ήπιο στρες κοινωνικής ήττας (sCSDS) χορηγήθηκαν για 24 ημέρες 1x10<sup>9</sup> CFU/ml/ημέρα του παραπάνω μεταβιοτικού. Τα αποτελέσματα έδειξαν τροποποίηση της γονιδιακής έκφρασης στον επικλινή πυρήνα του εγκεφάλου, αυξημένο

χρόνο αλληλεπίδρασης στο τεστ κοινωνικής αλληλεπίδρασης και μειωμένη αναλογία προτίμησης σακχαρόζης στο τεστ προτίμησης σακχαρόζης.

Τυχόν κατασταλτικές του στρες επιδράσεις μελετήθηκαν και για το **θερμικά θανατωμένο *Enterococcus faecalis* EC-12**. Σε αρσενικά ποντίκια C57BL/6J χορηγήθηκε τροφή εμπλουτισμένη με 0,125% του μεταβιοτικού για 4 εβδομάδες. Το μεταβιοτικό τροποποίησε τη γονιδιακή έκφραση στον προμετωπιαίο φλοιό και αύξησε στο έντερο τη σύνθεση των *Butyricoccus* και *Enterococcus*, μειώνοντας έτσι την αγχώδη συμπεριφορά τους.

Το **αδρανοποιημένο με θερμότητα *Lactobacillus gasseri* CP2305** χορηγήθηκε σε 60 μαθητές που προετοιμάζονταν για εισαγωγικές εξετάσεις στην ιατρική, προκειμένου να διερευνηθεί η επίδρασή του στο χρόνιο ψυχολογικό στρες. Επί 24 εβδομάδες τους χορηγήθηκαν 2 δισκία που περιείχαν από  $1 \times 10^{10}$  κύτταρα του συγκεκριμένου στελέχους. Οι αναλύσεις έδειξαν μείωση του άγχους και των διαταραχών του ύπνου. Επιπρόσθετα μειώθηκε η επαγόμενη από το στρες μείωση των *Bifidobacterium* spp και αύξηση των *Streptococcus* spp. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης παραμένει άγνωστος, επομένως θα χρειαστούν περαιτέρω μελέτες.

**Μεταβιοτικό μίγμα που προέρχεται από ταυτόχρονη ζύμωση του *Lactobacillus fermentum* και του *Lactobacillus delbrueckii***, χορηγήθηκε σε αρσενικά C57BL/6 ποντίκια. Τα ποντίκια αυτά έλαβαν επί 3 εβδομάδες τροφή που περιείχε 5% του παραπάνω μίγματος. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των επιπέδων κορτικοστερόνης και της αυξημένης δραστηριότητας.

Απαιτούνται κλινικές δοκιμές με εκτεταμένη διάρκεια παρακολούθησης, βιοχημικές μετρήσεις, μεγάλο μέγεθος δείγματος, καθώς και μελέτες που θα λαμβάνουν υπόψη διάφορους βαθμούς κατάθλιψης και την αγωγή αυτής. Επιπλέον θα χρειασθεί η κατανόηση των πιθανών παρενεργειών και του εύρους ασφαλείας των μεταβιοτικών (5).

### **Γαστρεντερικά προβλήματα εκτός των IBD**

Χορήγηση νεκρού από θερμότητα ***Lactobacillus acidophilus* LB** σε παιδιά μικρότερα των 24 μηνών με διάρροια που δεν προκαλείται από ροταϊό, μείωσε το χρόνο ανάκαμψης κατά μία ημέρα. In vitro δοκιμασία του σε Caco2/TC7 εντεροκύτταρα μολυσμένα με *Escherichia coli* έδειξε μείωση της παρακυτταρικής δραστηριότητας.

**Απενεργοποιημένο από θερμότητα *Lactobacillus casei* GG** σε παιδιά μικρότερα των τεσσάρων ετών με διάρροια προκαλούμενη από ροταϊό δεν έδειξε σημαντική επίδραση.

Χορήγηση **αδρανοποιημένου με θερμότητα *Lactobacillus acidophilus*** σε βρέφη 6 με 12 μηνών με αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας λόγω διάρροιας, οδήγησε σε αύξηση των ημερών με διάρροια και πυρετό, καταδεικνύοντας την αρνητική επίδρασή του.

**Μεταβιοτικό από *Lactobacillus paracasei* CBA 174** χορηγήθηκε σε παιδιά 12-48 μηνών που έπασχαν από κοινή μολυσματική νόσο. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των λοιμώξεων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος και της οξείας γαστρεντερίτιδας. Επιπλέον, αυξήθηκαν τα επίπεδα *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, *Oscillospira*, *Roseburia*. Η αύξηση του *Roseburia* συσχετίστηκε με την

IgA και  $\beta$ -defensin αύξηση. Η αύξηση των *Bacteroides* και των *Blautia* συσχετίστηκε με την  $\alpha$ -defensin αύξηση. Ακόμη, καταγράφηκε ανοδική ρύθμιση στην έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τη βουτυρική κινάση και το βουτυρυλο-συνένζυμο A, οδηγώντας σε αύξηση της σύνθεσης βουτυρικού οξέος.

Συγκρίθηκε η επίδραση του νεκρού από θερμότητα *Lactobacillus acidophilus* LB και του ζωντανού προβιοτικού σε άτομα 16 ετών και άνω που έπασχαν από χρόνια διάρροια. Τα κλινικά συμπτώματα βελτιώθηκαν και η συχνότητα διαρροϊκών κενώσεων μειώθηκε σημαντικά περισσότερο στην ομάδα που έλαβε μεταβιοτικό. Χρειάζονται περισσότερες κλινικές μελέτες προκειμένου να επιβεβαιωθεί η θετική επίδραση των μεταβιοτικών στη διάρροια ενηλίκων.

Μελετήθηκε η επίδραση του μη βιώσιμου *Lactobacillus gasseri* CP2305 σε υγιείς ενήλικες 20-70 ετών που όμως εμφάνιζαν συχνές εντερικές κινήσεις ή είχαν τάση για δυσκοιλιότητα. Τα αποτελέσματα έδειξαν θετική επίδραση στην εντερική λειτουργία. Ακόμη, τα επίπεδα του βαλερικού οξέος, του βουτυρικού οξέος, του προπιονικού οξέος και του *Clostridium* cluster IV αυξήθηκαν.

Οι παραπάνω δράσεις των μεταβιοτικών οφείλονται κυρίως στα SCFAs βουτυρικό, προπιονικό και οξικό. Αυτά τα SCFAs, επάγουν την απορρόφηση υγρών και νατρίου στο παχύ έντερο καθώς και τον πολλαπλασιασμό κυττάρων στο κόλον. Το προπιονικό οξύ μεταβολίζεται στο ήπαρ και χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα για τη γλυκονογένεση. Το βουτυρικό οξύ χρησιμοποιείται από τα κολονοκύτταρα ως κύρια πηγή ενέργειας. Το οξικό οξύ ανιχνεύεται στην περιφερική κυκλοφορία σε μεγαλύτερες ποσότητες. Το βουτυρικό και λιγότερο το προπιονικό, δρουν ως αναστολείς αποακετυλάσης της ι-στόνης. Με αυτόν τον τρόπο παρεμβαίνουν στη μεταγραφή γονιδίων ασκώντας την ανοσοτροποποιητική και αντιφλεγμονώδη δράση τους (32).

### Καρκινικές βλάβες

Μελετήθηκε η δράση του υπερκείμενου *Lactobacillus casei* ATCC334 στη συμμετοχή της *Salmonella* σε καρκινικές βλάβες. Η *Salmonella*, ένα Gram (-) βακτήριο, εκκρίνει την AvrA, μία πρωτεΐνη τελεστή που προάγει την ακετυλίωση καθώς και τη σύζευξη με ουβικουϊτίνη των πρωτεϊνών-στόχων. Η AvrA συμβάλλει στη διατήρηση της σταθερότητας της  $\beta$ -κατενίνης και την αναστολή της αποικοδόμησής της. Η  $\beta$ -κατενίνη συμμετέχει στην προσκόλληση των κυττάρων μεταξύ τους και τη μεταγραφή. Προάγοντας τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων στο έντερο, συμβάλλει στην ογκογένεση. Τα εξωκυττάρια κυστίδια (EVs), συμβάλλουν στη μεταφορά πληροφοριών τόσο μεταξύ βακτηρίων, όσο και μεταξύ βακτηρίων-κυττάρων ξενιστή. Εντός των EVs περιέχονται διάφορα μόρια, ανάμεσά τους και miRNA. Τα miRNA ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση. Εικάζεται ότι η διαμεσολαβούμενη από EVs διακυτταρική επικοινωνία μπορεί να συμμετέχει στην ανάπτυξη αντίστασης στην ανοσοθεραπεία και χημειοθεραπεία. Βρέθηκε ότι το προαναφερόμενο μεταβιοτικό περιέχει ferrichrome. Το ferrichrome προάγει την απόπτωση μέσω JNK. Σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου, το χορηγούμενο μεταβιοτικό σε δόσεις >100 ng/ml, έδειξε ίση ή μεγαλύτερη ογκοκατασταλτική δράση σε σύγκριση με τα συμβατικά φάρμακα αλλά επηρέασε σε μικρότερο βαθμό τα γειτονικά

υγιή κύτταρα. Θα μπορούσε λοιπόν να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτικό ογκοκατασταλτικό, ακόμη και σε συνδυασμό με συμβατικές θεραπείες, αν και χρειάζονται περισσότερες έρευνες προς αυτή την κατεύθυνση (10).

Η επίδραση του **EPS από το *L.acidophilus* 20079** μελετήθηκε σε HT-29 καρκινικά κύτταρα. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν μείωση της έκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα NF-kB και του TGF και αύξηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 και της IκB, πρωτεΐνη που αναστέλλει τον NF-kB. Η δράση του αυτή μείωσε τη φλεγμονή στα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου.

**EPS** που εξήχθησαν από τα ***L.casei* MS, *L.casei* X12, *L.casei* SB27, *L.casei* K11**, οδήγησαν σε διακοπή και απόπτωση του κυτταρικού κύκλου των καρκινικών κυττάρων HT-29 στις φάσεις G0/G1.

**EPS** απομονωμένο από το ***L.plantarum* NCU116** προκάλεσε την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου σε ποντίκια CT26, μέσω ενεργοποίησης σηματοδοτικών μονοπατιών. Το **EPS** ενεργοποίησε τον TLR2 υποδοχέα προκαλώντας την εξαρτώμενη από τον Fas/FasI δεσμευτή υποδοχέα ενεργοποίηση της c-Jun κινάσης.

**EPS από *L.acidophilus* LA1** μείωσε in vivo τις συγκεντρώσεις του οξειδίου της μηλονδιαλδεύδης και του NO, δρώντας κατά των καρκινικών κυττάρων του ασκίτη Ehrlich.

Η δράση των **CFS των *Lactobacillus casei* και *L.paracasei*** αξιολογήθηκε σε καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου HCT116 και HT29 και κύτταρα λευχαιμίας THP-1. Διαπιστώθηκε αύξηση της προαποπτωτικής σηματοδότησης των cfos και cjun και μείωση της έκφρασης των γονιδίων των προφλεγμονωδών κυτοκινών IL-1β, TNF-α.

Η δράση του **CFS από *L.rhamnosus* SHA111/112/113** μελετήθηκε σε καρκινική κυτταρική γραμμή HeLa. Τα αποτελέσματα έδειξαν επαγωγή της απόπτωσης μέσω της αύξησης της έκφρασης των γονιδίων BAD, BAX, Κασπάση-3,-8,-9 και μείωσης του Bcl-2.

**CFS από *L.casei* ATCC 334** σε κυτταρική σειρά SW-620 (παχέος εντέρου), είχε ως επακόλουθο την επαγωγή της απόπτωσης μέσω της ενεργοποίησης της cjun κινάσης.

**EPS από *L.plantarum* GD2, *L.rhamnosus* E9, *L.brevis* LB63, *L.delbrueckii* ssp και *L.bulgarius* B3** σε HT-29 έδειξε αύξηση της έκφρασης των γονιδίων BAX, Κασπάση-3,-9 και μείωση του Bcl-2 με αποτέλεσμα την απόπτωση των κυττάρων.

**CFS και EVs από *Faecalibacterium prausnitzii* A2-165** σε A549 επιθηλιακά κύτταρα αδενοκαρκινώματος πνεύμονα, ρύθμισαν ανοδικά την έκφραση των αντιφλεγμονωδών κυτοκινών IL-10, TGF-β2 και καθοδικά την έκφραση των προφλεγμονωδών κυτοκινών IL-6, TNF-α, TNF-β.

**SCFAs από *Clostridium butyricum*** σε HCT-116, HCT-8, Caco-2, κατέστειλαν το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt/β-κατενίνης.

Είναι απαραίτητη η διεξαγωγή κλινικών δοκιμών προκειμένου να καθορισθεί η δόση και η συχνότητα χορήγησης μεταβιοτικών σκευασμάτων σε ασθενείς με καρκίνο ως συμπληρωματική θεραπεία (33).

### Παρενέργειες αντικαρκινικής θεραπείας

Η εντερική βλεννογονίτιδα είναι φλεγμονώδης νόσος και αποτελεί παρενέργεια του αντικαρκινικού φαρμάκου 5-φθοροουρακίλη (5-FU). Το **υπερκείμενο του Escherichia coli Nissle 1917** χορηγούμενο σε ποντίκια που έπασχαν από βλεννογονίτιδα προκαλούμενη από 5-FU, εμφάνισε μερική προστατευτική δράση στο έντερο. Πιο συγκεκριμένα, το μεταβιοτικό αύξησε τη γονιδιακή έκφραση της ZO-1 και μείωσε τα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών IL-6, TNF-α. Ακόμη, βελτίωσε την ιστολογική βλάβη αυξάνοντας το ύψος των λαχνών και το βάθος των κρυπτών και αποτρέποντας την περαιτέρω μείωση των κυττάρων που παράγουν βλενίνη.

Το **υπερκείμενο του Lactobacillus plantarum** χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να μελετηθεί η επίδρασή του στα ανθεκτικά στην 5-FU καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου, HT-29 και HCT116. Το μεταβιοτικό αυτό ανέστειλε την έκφραση των CD44, CD133, CD166, ALDH1 δεικτών. Ακόμη, σε συνδυασμό με το 5-FU, ανέστειλε τη σηματοδότηση μέσω Wnt/β-κατενίνης και ενεργοποίησε τη δράση της κασπάσης-3, οδηγώντας τα καρκινικά κύτταρα σε κυτταρικό θάνατο (34).

### Οξεία νόσος μοσχεύματος

Η θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών και άλλων ασθενειών αντιμετωπίζεται και μέσω αλλογενούς μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (allo-HSCT). Ωστόσο, η συγκεκριμένη θεραπεία μπορεί να αποτύχει λόγω της εμφάνισης οξείας νόσου μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GVHD). Η οξεία GVHD προκαλεί δυσβίωση της εντερικής μικροχλωρίδας, οδηγώντας σε επιπλοκές τοπικές και συστηματικές και αυξάνοντας τη θνησιμότητα. Η υγιής εντερική μικροχλωρίδα κατά 90% αποτελείται από Bacteroides και Firmicutes. Το πρώτο βήμα για την ανάπτυξη GVHD είναι η βλάβη στον εντερικό φραγμό, επιτρέποντας έτσι τη μετατόπιση βακτηρίων διαμέσου του επιθηλιακού στρώματος στο εντερικό έλασμα (lamina propria). Τα βακτήρια αλληλεπιδρούν με τα ανοσοκύτταρα του ελάσματος. Η αναγνώριση MAMPs από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs), προκαλεί την ενεργοποίηση της Th1 και Th17 (προφλεγμονώδη κύτταρα) και μείωση της δραστηριότητας των Tregs. Τα επίπεδα των SCFAs σε άτομα με GVHD είναι μειωμένα. Το προπιονικό και το βουτυρικό οξύ συνδέονται στον υποδοχέα GPR43 στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα (IEC). Αυτό οδηγεί στην προστασία από τη σοβαρότητα της GVHD. Σε ποντίκια που έπασχαν από οξεία GVHD, χορήγηση **βουτυρικού άλατος προερχόμενου από Clostridia**, μείωσε τη σοβαρότητα της νόσου. Στην GVHD, μειωμένα είναι και τα επίπεδα των προσδεμάτων των AhR υποδοχέων. Χαμηλές συγκεντρώσεις ινδολών σχετίζονται με αύξηση των Enterococcus και των Lactobacillus. Υψηλές συγκεντρώσεις ινδολών με αύξηση των Bacteroidales, Akkermansia, Lachnospiraceae. Χορήγηση **μεταβολιτών ινδόλης προερχόμενων από Escherichia coli** σε ποντίκια με οξεία GVHD, μείωσε τη θνησιμότητα. Σε GVHD έχουν αναφερθεί αυξημένα επίπεδα χολικών οξέων. Βέβαια ο ρόλος τους είναι ασαφής. Υπάρχουν δεδομένα που υποδηλώνουν τη συμμετοχή τους στην παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών, την κινητοποίηση των ουδετερόφιλων και την ενεργοποίηση των T κυττάρων. Άλλα δεδομένα αποκαλύπτουν ότι τα χολικά οξέα αναστέλλουν τη φλεγμονή (53). Μελέτη σε τρία διαφορετικά μοντέλα ποντικών με allo-HSCT,

έδειξε ότι η χορήγηση **ταυρο-ουρσο-δεοξυχολικού οξέος (TUDCA) προερχόμενου από Escherichia coli** μείωσε τη σοβαρότητα της νόσου. Αυτό επιτεύχθηκε μέσω μείωσης της APC δραστηριότητας και της αναστολής της απόπτωσης των IECs, χωρίς παρεμβολή στην εντερική βακτηριακή σύνθεση. Χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για τη διευκρίνιση των αλλαγών στα εντερικά μικρόβια και τους μεταβολίτες τους κατά την εφαρμογή allo-HSCT. Επιπλέον, απαιτείται η αποσαφήνιση των ακριβών κυτταρικών και μοριακών μηχανισμών με τους οποίους η εντερική μικροχλωρίδα ρυθμίζει τις ανοσολογικές αποκρίσεις στην GVHD. Χρειάζονται περισσότερες δοκιμές σε ανοσοκατεσταλμένους προκειμένου να διευκρινισθεί η ανοχή τους σε αυτά τα βιοδραστικά (35).

### **Συνέργεια με βιταμίνη D**

Διερευνήθηκε η συνεργική δράση της ενεργούς βιταμίνης D και του **βουτυρικού οξέος** μέσω του υποδοχέα της βιταμίνης D, VDR, σε ποντικούς C57BL/6 που έπασχαν από κολίτιδα προκαλούμενη από Salmonella. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της έκφρασης των φλεγμονωδών κυτοκινών IL-1β, IL-8, IL-6, TNF-α στο κόλον και ενίσχυση της έκφρασης του αντιμικροβιακού πεπτιδίου ανθρώπινη βήτα ντεφενσίνη 3 (hBD-3). Ορισμένα είδη Salmonella αποκτούν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά όπως η Salmonella enterica υπότυπος Typhimurium (ST).

Η ενεργή βιταμίνη D3, 1 άλφα, 25-διυδροξυβιταμίνη D3, ενισχύει την έκφραση της καθελικιδίνης, ενός AMP, στα επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου. Επιπλέον, επάγει την κυτταρική αυτοφαγία και αναστέλλει τη βακτηριακή μετατόπιση. Στα ποντίκια ο συνδυασμός 1,25 D3 και βουτυρικού οξέος ανέστειλε τη μετατόπιση και τον αποικισμό του παθογόνου σε σπλήνα και ήπαρ. Η 1,25 D3 επηρεάζει τη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος και αυξάνει τα βακτήρια που παράγουν βουτυρικό οξύ. Το βουτυρικό οξύ ρυθμίζει ανοδικά την έκφραση του VDR υποδοχέα. Θα χρειασθούν μελέτες προκειμένου να αποσαφηνισθεί ο μηχανισμός με τον οποίο το βουτυρικό ασκεί ανοδική ρύθμιση στην έκφραση και τη δράση του VDR υποδοχέα. Η ενεργοποίηση των TLR υποδοχέων από παθογόνα επάγει τη σηματοδότηση για την ενεργοποίηση του VDR. Η 1,25 D3 αυξάνει την παραγωγή, σταθεροποιεί και προστατεύει από αποικοδόμηση τον VDR.

Το βουτυρικό οξύ μειώνει στα IECs την παραγωγή IL-6, IL-1β, IL-8, TNF-α μέσω της αναστολής HDAC και της NF-kB οδού. Ακόμη αυξάνει την έκκριση AMPs κυρίως β-αμυνσινίνης και καθελικιδίνης και μειώνει την προσκόλληση παθογόνων στον βλεννογόνο του εντέρου. Επιπλέον, ωθεί την ανάπτυξη προβιοτικών οργανισμών έναντι παθογόνων και ενεργοποιεί τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), οδηγώντας σε αύξηση της βλεννίνης. Η χυμειοκίνη IL-8 ρυθμίζει τη μετανάστευση των ουδετερόφιλων στο σημείο της μικροβιακής μόλυνσης. Το βουτυρικό οξύ χορηγούμενο από του στόματος σε ποντίκια που έπασχαν από κολίτιδα λόγω σαλμονέλλας, μείωσε τη συγκέντρωση των ουδετερόφιλων αναστέλλοντας την έκφραση της IL-8. Τα κύτταρα των λαχνών εκτίθενται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις βουτυρικού οξέος από ότι τα βλαστοκύτταρα στην κρύπτη. Οι επιδράσεις του βουτυρικού εξαρτώνται από τη συγκέντρωσή του. Υψηλότερη συγκέντρωσή του σχετίζεται εκτός από μεγαλύτερη συμβολή σε ανοσολογικές αποκρίσεις και σε μεγαλύτερη συνέργεια

με την 1,25 D3. Ωστόσο, πρέπει να διευκρινισθεί ποια είναι η βέλτιστη συγκέντρωση για την άσκηση θεραπευτικής δράσης. Δεν είναι γνωστό το βουτυρικό οξύ από ποιο μικροοργανισμό προήλθε, παρά μόνο ότι η προμήθειά του έγινε από τη Sigma (36).

### **Βρεφικά παρασκευάσματα**

Τα ζυμωμένα παρασκευάσματα για βρέφη πρώτης και δεύτερης ηλικίας (FIF), προέρχονται από βακτήρια γαλακτικού οξέος ή άλλα βακτήρια και δεν περιέχουν βιώσιμα κύτταρα, μικροοργανισμούς (37). Η χορήγηση **μεταβιοτικών προερχόμενων από τα βακτήρια Bifidobacterium breve C50 και Streptococcus thermophilus 065** σε συνδυασμό με τα πρεβιοτικά scGOS/IcFOS σε υγιή νεογέννητα δεν έδειξε ανεπιθύμητα συμβάντα. Μελέτη του συγκεκριμένου FIF σε βρέφη 0-28 ημερών με κολικό, μαλάκωσε τα κόπρανα και μείωσε το συνολικό χρόνο διέλευσής τους, χωρίς να παρεμβαίνει στη φυσιολογική ανάπτυξή τους. Η καμπύλη δόσης-απόκρισης πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν. Διαφορετικές συγκεντρώσεις τους στη φόρμουλα, 0%, 15%, 30%, 50%, έδειξαν διαφορετικές αποκρίσεις. Ακόμη, πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν και το γεγονός ότι η χορήγηση μόνο scGOS/IcFOS βελτιώνει τη συνοχή των κοπράνων καθιστώντας ασαφές το αν η βελτίωση αυτής της παραμέτρου αποδίδεται στο συνδυασμό των παραγόντων της φόρμουλας. Σε άλλη μελέτη η χορήγησή του σε πρόωρα και μη βρέφη ήταν καλά ανεκτή. Σημειώθηκαν αλλαγές στη σύνθεση του μικροβιώματος, μειωμένες συγκεντρώσεις καλπροτεκτίνης, αύξηση IgA κατά της πολιομυελίτιδας λόγω της ενίσχυσης του αποικισμού των Bifidobacterium, μείωση της συχνότητας εμφάνισης γαστρεντερικών διαταραχών, μείωση στα επίπεδα φλεγμονωδών δεικτών όπως TNF-α (38). Άλλες μελέτες όμως με το ίδιο μεταβιοτικό και τον ίδιο εξεταζόμενο πληθυσμό δεν έδειξαν τα ίδια αποτελέσματα (28). Χορήγησή του σε νεογνά με υψηλό κίνδυνο αλλεργίας στο αγελαδινό γάλα οδήγησε σε μείωση των αναπνευστικών και των πεπτικών λοιμώξεων και σε ηπιότερες θετικές απαντήσεις σε δοκιμές δέρματος σε πρωτεΐνες αγελαδινού γάλακτος. Χορήγησή του σε παιδιά 4-6 μηνών με οξεία διάρροια οδήγησε σε ενίσχυση της έκφρασης IgA και σε λιγότερο σοβαρά επεισόδια διάρροιας χωρίς όμως να επηρεάζεται η συχνότητα των διαρροϊκών κενώσεων ή ο αριθμός των νοσοκομειακών εισαγωγών. Για αυτό το λόγο η χορήγηση σε παιδιά με διάρροια πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή (38).

### **Αλλεργίες, δυσανεξία και ατοπική δερματίτιδα**

**Αδρανοποιημένο με θερμότητα Lactobacillus rhamnosus** χορηγούμενο σε βρέφη 5,5 μηνών περίπου με αλλεργία στο γάλα αγελάδος και ατοπικό έκζεμα, δεν βελτίωσε τα σχετιζόμενα συμπτώματα αλλά προκάλεσε και ανεπιθύμητα συμπτώματα από το γαστρεντερικό (32).

**Νεκρό από θερμότητα Lactobacillus paracasei 33** χορηγήθηκε σε παιδιά κάτω των 18 ετών που έπασχαν από αλλεργική ρινίτιδα λόγω των ακάρεων που υπάρχουν στη σπιτική σκόνη. Τα αποτελέσματα έδειξαν βελτίωση της συνολικής ποιότητας ζωής όπως καταγράφηκε στο ερωτηματολόγιο ποιότητας ζωής PRQLQ.



Συγκρίθηκε η επίδραση μεταξύ προβιοτικού και **μεταβιοτικού προϊόντος του Lactobacillus rhamnosus Rosell-11 και Lactobacillus acidophilus Rosell-52** σε παιδιά 10-12 ετών τα οποία εμφάνιζαν δυσαπορρόφηση της λακτόζης. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με βάση το τεστ υδρογόνου αναπνοής (BHT). Μετά το πέρας 120 λεπτών το BHT έδειξε λιγότερη δυσαπορρόφηση λακτόζης αμφότερα, χωρίς κάποιο να πλεονεκτεί.

Σε ενήλικες 20-65 ετών με ατοπική δερματίτιδα χορηγήθηκε **μεταβιοτικό Lactobacillus paracasei K71**. Τα αποτελέσματα έδειξαν βελτίωση των δερματικών προσβολών και λιγότερη χρήση τοπικών θεραπευτικών σε σχέση με εικονικό φάρμακο. Όμως οι βαθμολογίες στο ερωτηματολόγιο ποιότητας ζωής και της φαγούρας δεν είχαν σημαντικές διαφορές (8).

### **Περιοδοντίτιδα**

Αξιολογήθηκε η επίδραση του **υπερκείμενου καλλιέργειας προβιοτικών Lactobacillus** στο σχηματισμό βιοφίλμ και την αναστολή οστεοκλαστογένεσης, ως επακόλουθο της προκαλούμενης από *Streptococcus mutans* περιοδοντίτιδας. Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν μακροφάγοι RAW 264,7. Το Gram (+) αναερόβιο *S. mutans* είναι υπεύθυνο για την πρόκληση τερηδόνας, αφού ωθεί τη δημιουργία οδοντικής πλάκας και όξινου περιβάλλοντος εντός της στοματικής κοιλότητας. Η ανθεκτικότητά του σε όξινο περιβάλλον οφείλεται στην παραγωγή από το βακτήριο οξέος. Σύνθεση γλυκανών αδιάλυτων στο νερό μέσω της έκφρασης γλυκοζοτρανσφεράσης συμβάλλουν στη μολυσματικότητά του. Η συσσώρευση βακτηρίων οδηγεί σε φλεγμονή του ουλώδους ιστού με αύξηση των προφλεγμονωδών κυτοκινών και του οξειδωτικού στρες, καταλήγοντας σε εμφάνιση περιοδοντίτιδας η οποία μπορεί να καταλήξει σε απώλεια οστών. Η διαφοροποίηση των οστεοκλαστών με τη μεσολάβηση RANKL συνδέεται, σχετίζεται με την απώλεια οστών και την περιοδοντίτιδα. Τα μακροφάγα ή μονοκύτταρα αποτελούν τα πρόδρομα κύτταρα των πολυπύρηνων κυττάρων των οστεοκλαστών. Το RANKL μέσω της σύνδεσής του στο RANK υποδοχέα του διεγείρει την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων πυρηνικός παράγοντας 1 ενεργοποιημένων κυτταροπλασματικών κυττάρων T (NFATc1) και c-fos των οστεοκλαστών. Στους οστεοκλάστες το NFATc1 ρυθμίζει την πρόσφυση και την απορρόφηση των οστών μέσω της ανοδικής ρύθμισης των πρωτεασών, μήτρα μεταλλοπρωτεΐνης-9 (MMP-9), λυσοσωμική πρωτεάση κυστεΐνης καθεψίνη K, TRAP (αποκοδόμηση σκελετικών φωσφοπρωτεϊνών). Αυτές διαμεσολαβούν στην αποικοδόμηση οστεοποντίνης και κολλαγόνου. Το σύμπλεγμα RANKL/RANK συνδέεται με τον παράγοντα 6 σχετιζόμενο με τον υποδοχέα του TNF (TRAF6). Ο TRAF6 ενεργοποιεί τον NF-kB και τα MAPKs (p38, EPK, JNK). Ο NF-kB συμπλοκοποιείται με ανασταλτικό κB (IkB) στο κυτταρόπλασμα. Οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες και το RANKL αποικοδομούν το IkB και ο NF-kB εισέρχεται στον πυρήνα. Ο ελεύθερος NF-kB συνδέεται σε περιοχές του DNA οδηγώντας στην έκφραση MMP-9. Η αμοξυγενάσης-1 (HO-1) ρυθμίζει το φλεγμονώδες και οξειδωτικό στρες. Αυξημένα επίπεδα ελεύθερης αίμης συνεπάγονται αυξημένα επίπεδα ελεύθερου σιδήρου, ο οποίος επάγει την παραγωγή ROS. ROS εμπλέκονται στην περιοδοντίτιδα οδηγώντας σε καταστροφή του οστίτη οστού, λόγω του ότι διεγείρουν πρωτεΐνες. Το RANKL αυξάνει

τα ROS μέσω του καταρράκτη σηματοδότησης RANK/TRAF6/Rac1 (οικογένεια Rho, πρωτεΐνη που δεσμεύει GTP)/Nox (NADPH οξειδάση). Τα ROS επάγουν τον NF-κB προωθώντας έτσι την οστεοκλαστογένεση. Τα κύτταρα προσπαθούν να προστατευτούν από τη δράση τους επάγοντας ανάλογους μηχανισμούς. Όμως κατά την οστεοκλαστογένεση οι μηχανισμοί αυτοί εξασθενούν. Ο παραγόμενος εξωπολυσακχαρίτης (EPS) συμβάλλει στο σχηματισμό βιοφίλμ.

Ως βιοφίλμ ορίζονται τα συσσωματώματα μονών ή πολλαπλών κοινοτήτων βακτηρίων, τα οποία προάγουν τον μικροβιακό αποικισμό. Τα βακτήρια του βιοφίλμ είναι ανθεκτικά σε φυσικές και χημικές καταπονήσεις και έχουν μεγάλο διαμέτρημα που τους καθιστά ικανούς να ξεπεράσουν την ανοσιακή απόκριση.

**Εκχύλισμα αιθανόλης από το *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU101** χορηγούμενο σε αρουραίους, ανέστειλε σημαντικά την προκαλούμενη από EPS περιοδοντική φλεγμονή.

**Υπερκείμενο καλλιέργειας από τα *L.reuteri*, *L.plantarum*, *L.casei*, *L.salivarius*** οδήγησαν σε μειωμένη ανάπτυξη του βακτηρίου.

**Τα υπερκείμενα καλλιέργειας των *L. rhamnosus* MG316, *L. casei* MG311, *L. salivarius* MG4265, *L.lactis* MG5125**, εμφάνισαν τη μεγαλύτερη ανασταλτική δράση έναντι του σχηματιζόμενου βιοφίλμ. Η ικανότητά τους αυτή οφείλεται στην αναστολή της μεταγραφής του *gtfd* γονιδίου, το οποίο κωδικοποιεί τη γλυκοζυλοτρανσφεράση.

Οι παραγόμενες από ***Lactobacillus* βιοεπιφανειοδραστικές πρωτεΐνες** μέσω της μείωσης στην επιφανειακή τάση, προκάλεσαν αναστολή της προσκόλλησης του βακτηρίου.

Το συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος του ***L. plantarum*, LTA**, μέσω της αποικοδομητικής δράσης του στη σακχαρόζη, απαραίτητο συστατικό για τη σύνθεση EPS, κατέστειλε το σχηματισμό βιοφίλμ. Η ανασταλτική αυτή δράση του LTA είναι ειδική λόγω των μονάδων D-αλανίνης και του γλυκολιπιδίου, δηλαδή λόγω της δομής του.

Μεταβολίτες όπως **SCFAs, μουροπεπτίδια, βακτηριοσίνη, μεταβολίτες τρυπτοφάνης**, εικάζεται ότι συμμετέχουν στις δράσεις του υπερκείμενου καλλιέργειας των ειδών *Lactobacillus* στην οστεοκλαστογένεση και στο βιοφίλμ. Χρησιμοποιήθηκαν δόσεις μεταβιοτικών των 50, 100 και 200 μg/ml. Η μεγαλύτερη απόκριση φάνηκε στα 50 μg/ml (39).

Το *Porphyromonas gingivalis* είναι υπεύθυνο για την πρόκληση περιοδοντίτιδας στα επιθηλιακά ουλώδη κύτταρα. Τα **μεταβιοτικά** που απελευθερώνονται **από τη λύση του *L.rhamnosus* Lr-32** αύξησαν την έκφραση των CXCL-8, IL-6, TNF-α, IL-1β σε μολυσμένα επιθηλιακά ουλώδη κύτταρα με *P.gingivalis*, καθώς και την έκφραση των TLR2, TLR4 υποδοχέων. Οι παραπάνω δράσεις του μεταβιοτικού ενισχύουν τη φλεγμονώδη απόκριση μειώνοντας την ανάπτυξη του παθογόνου βακτηρίου. Η παραπάνω μελέτη πραγματοποιήθηκε in vitro. Πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν ότι τα υπερβολικά υψηλά επίπεδα στον ουλώδη ιστό και στο σάλιο φλεγμονωδών μεσολαβητών, προκαλούν ιστική βλάβη στην περιοδοντίτιδα (40).

### Αντιμικροβιακή δράση

Η **ινδολο-3-καρβοξυ-αλδεϋδη (3-IAld)**, ένας μεταβολίτης τρυπτοφάνης, χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητάς της σε ποντικούς μολυσμένους με *Aspergillus fumigatus*. Η 3-IAld παράγεται από την εντερική μικροχλωρίδα. Ωστόσο, στη συγκεκριμένη μελέτη δεν είναι γνωστό από ποιο μικροοργανισμό ή με ποια διαδικασία απομονώθηκε, παρά μόνο αναφέρεται η προμηθευτρια εταιρία, Sigma-Aldrich. Η χορήγηση της 3-IAld σε δόση των 4,5 mg/kg, έγινε μέσω τοπικής παροχής στους πνεύμονες με τη μορφή εισπνεόμενης κόνεως. Τα αποτελέσματα έδειξαν αναστολή της τοπικής ανάπτυξης του μύκητα καθώς και της μετατόπισής του στον εγκέφαλο. Επίσης, μειώθηκε η κινητοποίηση των ουδετερόφιλων και τα επίπεδα κυτοκινών και χυμιοκινών. Η δράση της ασκείται μέσω ενεργοποίησης του AhR υποδοχέα. Επιπλέον, αξιολογήθηκε η δραστηριότητά της και μετά από του στόματος χορήγηση στο ίδιο πειραματικό μοντέλο, αλλά και ενδορινικά. Η 3-IAld περιόρισε τη φλεγμονή και την πρόσβαση του μικροβίου στα κύτταρα του ξενιστή. Σε συγκεντρώσεις έως 0,03 mg/ml δεν είναι τοξική. Η τοξικότητα σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις πιθανολογείται ότι οφείλεται στην παρουσία διαλυτικού μέσου, την αιθανόλη. Η 3-IAld διατηρεί την ακεραιότητα της βλεννογόνου στιβάδας και μπορεί να διαχέεται σε όλο το επιθήλιο χωρίς τοξικές επιδράσεις. Καθώς η δράση της δεν είναι επιλεκτική για το παθογόνο, ίσως μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την αντιμετώπιση άλλων παθογόνων, ειδικά αυτών που παρουσιάζουν αντίσταση στα αντιβιοτικά, καθώς και αλλεργιογόνων. Η εισπνεόμενη ξηρή σκόνη αποδείχθηκε αποτελεσματικότερη ως οδός χορήγησης για την αντιμετώπιση της λοίμωξης (7).

Εξετάστηκε η επίδραση των **BS που απομονώθηκαν από τα βακτήρια *Lactobacillus acidophilus* NCFM και *Lactocaseibacillus rhamnosus* LGG** έναντι στον ανθεκτικό στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus*, MRSA, αλλά και στον ευαίσθητο, MSSA.

Το MRSA είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό και έχει μεγάλη προσαρμοστικότητα. Εμφανίζεται συχνά σε νοσοκομειακό περιβάλλον. Το βιοφίλμ σχηματίζεται σε μεταλλικές και πλαστικές επιφάνειες που μπορεί κατά τα άλλα να είναι αβιοτικές. Για παράδειγμα εμφανίζεται σε επιφάνειες επεξεργασίας τροφίμων και ιατρικές συσκευές. Ο σχηματισμός βιοφίλμ ακολουθεί τα εξής στάδια. Πρόσφυση, ωρίμανση, αποκόλληση.

Το BS των NCFM και LGG σχηματίζεται εξωκυττάρια. Το BS του NCFM αποτελείται από πρωτεΐνες, λιπίδια, υδατάνθρακες, ενώ του LGG από πρωτεΐνες και υδατάνθρακες. Είναι τύπου γλυκολιποπρωτεΐνης και γλυκοπρωτεΐνης αντίστοιχα. In vitro σταφυλοκοκκικά κύτταρα επώαστηκαν με BS. Τα αποτελέσματα έδειξαν αναστολή του σχηματισμού βιοφίλμ και διαταραχή του σχηματισμένου, λόγω πρόκλησης βλάβης στην κυτταρική μεμβράνη. Αυτό επιτεύχθηκε μέσω σχηματισμού πόρων στην κυτταρική μεμβράνη του βακτηρίου, αύξηση της τραχύτητας αυτής, διαρροής κυτταρικών συστατικών και έκχυσης κυτταροπλάσματος. Η επίδραση ήταν δοσοεξαρτώμενη με την επίτευξη του μέγιστου αποτελέσματος σε δόσεις των 100 mg/ml. BS ενσωματωμένο σε λιποσώματα έδειξε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα.

Πρέπει να εξετασθεί η σταθερότητα του BS υπό την επίδραση παραγόντων όπως το pH, η θερμοκρασία, η ωσμωτικότητα, η παρουσία άλατος και αντιμικροβιακών ενώσεων (41).

Το **υπερκείμενο καλλιέργειας του *Lentilactobacillus diolivorans* LMG 19668** περιέχει 13,4 gr/L reuterin. Η περιεκτικότητα σε reuterin είναι σταθερή στους -20°C για διάστημα 35 ημερών και σε pH=7. Η σταθερότητα μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας και με τη πάροδο των ημερών, με την αλλαγή του pH. Σε ποντίκια χορηγήθηκαν 400ml υπερκείμενου υγρού επί 4 εβδομάδες. Η αντιμικροβιακή δράση σημειώθηκε έναντι των βακτηρίων *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus agalactiae*. Η δράση αυτή αποδίδεται στην εξάντληση των ελεύθερων ομάδων θειόλης της γλουταθειόνης, των πρωτεϊνών και των ενζύμων. Αυτό έχει ως συνέπεια την ανισορροπία στην οξειδοαναγωγική κατάσταση που οδηγεί στον κυτταρικό θάνατο των βακτηρίων. Η επιρροή της reuterin στη μικροχλωρίδα του εντέρου διαφαίνεται από την ανάλυση πτητικών οργανικών ενώσεων στα κόπρανα (VOC) σε μοντέλο ποντικού. Η ανάλυση VOC έδειξε μείωση των επιπέδων του επτανίου και αύξηση της 3-μεθυλοβουτανάλης. Στα περισσότερα είδη η reuterin είναι ένα ενδοκυττάριο ενδιάμεσιο και δεν συσσωρεύεται. Το *Lentilactobacillus diolivorans* LMG 19668 συσσωρεύει εξωκυττάρια reuterin χωρίς να είναι ακόμα γνωστός ο υποκείμενος μηχανισμός. Η reuterin είναι δραστική στο έντερο ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Αυτό το γεγονός είναι ιδιαίτερα θετικό αφού ο ανταγωνισμός για τα θρεπτικά συστατικά και οι ανταγωνιστικές/συνεργιστικές σχέσεις μεταξύ των εντερικών μικροοργανισμών επηρεάζουν την αντιμικροβιακή της δράση (38).

Το **υπερκείμενο καλλιέργειας *Lactobacillus rhamnosus* GG**, απέτρεψε νεογνικούς αρουραίους από το να αναπτύξουν λοίμωξη όταν έρχονταν σε επαφή μέσω της στοματικής οδού με *Escherichia coli* K1. Η αντίσταση αναπτύχθηκε μέσω της επιτάχυνσης της ωρίμανσης της εντερικής ανοσίας. Τα βιοδραστικά που είναι υπεύθυνα για αυτό το αποτέλεσμα είναι οι εκκρινόμενες πρωτεΐνες HMO539, p40 και p75. Αρχικά πραγματοποιήθηκε πείραμα *in vitro* σε μονοστιβάδες Caco-2 και με συγκεντρώσεις 0-100 ng/ml μεταβιοτικού. Το HMO539 απέτρεψε τον τραυματισμό που προκαλείται από LPS και TNF- $\alpha$ . Αυτό επιτεύχθηκε μέσω της ανοδικής έκφρασης της MUC-2 και του ZO-1.

Εξετάστηκαν και συγκρίθηκαν παράμετροι ανάμεσα σε ποντίκια με χημικά προκαλούμενη κολίτιδα από θεική δεξτράνη (DSS) και ποντίκια που τους χορηγήθηκε DSS και HMO539. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στα ποντίκια της δεύτερης ομάδας, η απώλεια σωματικού βάρους ήταν μικρότερη και το μήκος του παχέος εντέρου μεγαλύτερο. Η απώλεια κρυπτών αποκαταστάθηκε μέσω της αύξησης του MUC-2 και ZO-1. Επειδή η απώλεια της ακεραιότητας του επιθηλίου προηγείται της φλεγμονής και του τραυματισμού, το HMO539 είναι χρήσιμο εργαλείο. Η δράση των p40 και p75 είναι αντιαποπτωτική και κυτταροπροστατευτική απέναντι στα ανθρώπινα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα. Η δράση της p40 είναι πιο ισχυρή από την p75. Αποδείχθηκε ότι η p40 ανέστειλε την επαγόμενη από κυτοκίνη απόπτωση των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων, ενίσχυσε την παραγωγή βλεννίνης και IgA και διατήρησε τον εντερικό φραγμό (42).

Τα γαστρεντερικά νηματώδη (GIN) που προσβάλλουν τον άνθρωπο, τα αγκυλόστομα (*Necator americanus*, *Ancylostoma ceylanicum*, *Ancylostoma duodenale*), τα μαστίγια (*Trichuris trichiura*), τα ασκαρίδια (*Ascaris lumbricoides*), δεν αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά από τη βενζιμιδαζόλη και τα παράγωγά της. Για αυτό το λόγο η ανάπτυξη νέων ανθελμινθικών κρίνεται απαραίτητη. Από ασπορογενή *Bacillus thuringiensis* απομονώθηκε η πρωτεΐνη 5B, η οποία παράγεται κατά τη βλαστική φάση. Η πρωτεΐνη αυτή πειραματικά εκφράστηκε σχηματίζοντας κυτοσολικούς κρυστάλλους (Cry5B). Το Cry5B είναι συμβατό με συγχορήγηση παραγώγων βενζιμιδαζόλης. Οι βακτηριακοί αυτοί κυτοσολικοί κρυστάλλοι προέρχονται από απενεργοποιημένα βακτήρια (IBACC). Η δράση του IBACC έναντι των GIN επικυρώθηκε τόσο in vitro όσο και in vivo σε χάμστερ. Σε χάμστερ το Cry5B IBACC ενσωματωμένο σε σύνθεση που το προστατεύει από την πέψη στο στομάχι, έδειξε ότι εφάπαξ δόση 40 mg/kg και στη συνέχεια 200 mg/kg σε 5 διαδοχικές δόσεις, ήταν αποτελεσματικές και ασφαλείς. Η χορήγηση έγινε από του στόματος. Τα βακτήρια κατέστησαν ανενεργά μέσω εμβάπτισής τους σε αιθέρια έλαια (δεν ευνοείται ο σχηματισμός σπορίων λόγω των περιεχόμενων τερπενίων). Ακολούθησε πλύση ώστε να χορηγηθούν. Το Cry5B συνδέεται με τον υποδοχέα του, που είναι ένα γλυκολιπίδιο, το οποίο υπάρχει μόνο στα ασπόνδυλα. Ο υποδοχέας αυτός βρίσκεται στο ασπόνδυλο έντερο. Το συνδεδεμένο Cry5B καταστρέφει το έντερο, σκοτώνοντας έτσι το μικρόβιο. Το Cry5B IBACC είναι ένα μεταβιοτικό, το οποίο αποδείχθηκε δραστικό τόσο σε προνύμφες, ελάχιστη δόση 0,5 µg/ml έως 1µg/ml, όσο και σε ενήλικα παράσιτα, 5µg/ml, αναστέλλοντας την κινητικότητα του παρασίτου μέσω της αιμολυτικής δράσης του σε αυτό. Πράγματι, τόσο το βάρος των παρασίτων όσο και ο αριθμός τους στα κόπρανα των χάμστερ, ήταν μειωμένα. Ταυτόχρονη χορήγηση όξινου ανθρακικού νατρίου για εξουδετέρωση του οξέος του στομάχου, καθιστά αποτελεσματικότερη τη δράση τους. Κρίσιμη παράμετρος για την αποτελεσματικότητά του είναι και η παράδοση στον τόπο δράσης, η σταθερότητα κατά την αποθήκευση και κατά τη συγχορήγηση με άλλα φάρμακα. Για αυτό το λόγο το Cry5B IBACC λυοφιλοποιήθηκε. Μελετήθηκε η επαναλαμβανόμενη και σε υψηλή δοσολογία χορήγηση του μεταβιοτικού. Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν τοξικότητα με βάση τα ιστοπαθολογικά και αιματολογικά δεδομένα σε ζώα. Ωστόσο, χρειάζονται έρευνες σε μεγαλύτερους πληθυσμούς για μελέτη τόσο της οξείας όσο και της χρόνιας τοξικότητας (43).

Η δεοξυνιβαλενόλη (DON) είναι μία μυκοτοξίνη που παράγεται από τον αποικισμό μυκήτων στο έντερο. Οι μύκητες εισέρχονται στον οργανισμό μέσω της τροφής διότι έχουν αναπτύξει αντοχή σε πολλά χημικά συντηρητικά. Μεταβολίτες του *Lactobacillus plantarum* μελετήθηκαν ως προς την αντιμετώπιση της τοξικότητας της DON στο έντερο. Συγκεκριμένα μελετήθηκε το υπερκείμενο χωρίς κύτταρα (CFS) της καλλιέργειας των στελεχών *L. Plantarum* ATCC 14917, στέλεχος 1 (SN1) και *L.plantarum* subsp. *plantarum* strain G1, στέλεχος 2 (SN2). Η δράση τους αξιολογήθηκε σε κύτταρα νήσιδας χοίρων που είχαν προσβληθεί από τη μυκοτοξίνη. Χρησιμοποιήθηκαν  $1,1 \times 10^8$  CFU/ml από το SN1 και  $2 \times 10^9$  CFU/ml από το SN2. Τα αποτελέσματα έδειξαν βελτίωση της μορφολογίας και αύξηση της πυκνότητας των κύλικων κυττάρων του παχέος εντέρου, καθώς και μείωση της απόκρισης απέναντι στο οξειδωτικό στρες. Η DON προκαλεί ιστολογικές αλλοιώσεις, νέκρωση

εντεροκυττάρων, σύντηξη και ατροφία λαχνών. Στις λάχνες και τις κρύπτες η πυκνότητα των κύλικων κυττάρων μειώνεται και αυξάνεται η παραγωγή ROS, ειδικά ανιόντων υπεροξειδίου. Αυτό συμβαίνει μέσω της προκαλούμενης αποσταθεροποίησης των λυσοσωμάτων και απορρύθμισης των μιτοχονδριακών αφυδρογονασών. Οι ROS προκαλούν υπεροξειδωση λιπιδίων στις πυρηνικές, μιτοχονδριακές και κυτταρικές μεμβράνες, καθώς και βλάβη στο DNA και στις πρωτεΐνες του κυτοσολίου.

Μικρά κατιονικά πεπτιδία σταθερά στη θερμότητα έχουν παρατηρηθεί στο CFS των SN1 και SN2. Τα πεπτιδία αυτά είναι βακτηριοσίνες. Είναι πιθανό ότι οι βακτηριοσίνες ασκούν ανασταλτική δράση στο DON, μέσω προσκόλλησης στη β-υπομονάδα της πυροσταφυλικής αφυδρογονάσης E1. Επιπλέον, οι βακτηριοσίνες ενισχύουν τον εντερικό φραγμό και την εντερική έκκριση. Η δράση του μεταβιοτικού ενάντια στη λιπιδική υπεροξειδωση αξιολογήθηκε από τα μειωμένα επίπεδα της MDA, ενός ενδιάμεσου στη διαδικασία της υπεροξειδωσης (44).

Μελετήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα του ενδοκυτταρικού κλάσματος προερχόμενου από *Lactobacillus casei* CRL431, IC-431. Χρησιμοποιήθηκαν αρουραίοι που τους χορηγήθηκε αφλατοξίνη B1 (AFB1), με αποτέλεσμα να τους προκληθεί οξειδωτικό στρες. Η AFB1 οδηγεί σε υπερβολική υπεροξειδωση λιπιδίων με τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία MDA. Επίσης, εξαντλεί τη διαθεσιμότητα της GSH λόγω αλλαγών στη δομή της και μέσω της προκαλούμενης διαδικασίας σύζευξης. Ακόμη, οδηγεί σε υψηλή κατανάλωση οξυγόνου από τα μιτοχόνδρια του ήπατος καθώς και στη δημιουργία υψηλότερου δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης, η οποία οδηγεί σε υψηλότερη ενεργειακή ικανότητα του εσωτερικού της τμήματος και επομένως σε μεγαλύτερη σύνθεση τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) και υψηλότερα επίπεδα ROS. Κυτταρικά κλάσματα των αρουραίων αυτών υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με IC-431 (1ml) και κατόπιν εξετάστηκε η μιτοχονδριακή λειτουργία, τα επίπεδα H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και ο δείκτης οξειδωτικού στρες (OSi). Τα αποτελέσματα έδειξαν χαμηλότερο OSi και υψηλότερες δραστηριότητες ηπατικής γλουταθειόνης, υπεροξειδάσης και καταλάσης, χαμηλότερη παραγωγή H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και χαμηλότερη αποσταθεροποίηση της μιτοχονδριακής αναπνοής. Αυτά τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το IC-431 διαπερνά τον εντερικό φραγμό και εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος, ενισχύοντας την αντιοξειδωτική ενζυμική απόκριση και μειώνοντας την ηπατική μιτοχονδριακή δυσλειτουργία.

Σε άτομα άνω των 65 ετών χορηγήθηκε νεκρό από θερμότητα *Lactobacillus pentosus* b240 για τη μελέτη συχνότητας λοίμωξης από τον ιό κοινού κρυολογήματος, σε χαμηλή και υψηλή δόση. Η υψηλή δόση μεταβιοτικού οδήγησε σε καλύτερη ποιότητα ζωής μαρτυρώντας τη θετική επίδραση στην πρόληψη καθώς και ότι υπάρχει συσχέτιση δόσης-απόκρισης.

Σε γυναίκες με μέση ηλικία 45,4 έτη που είχαν εμβολιασθεί με τρισθενές απενεργοποιημένο εμβόλιο γρίπης, χορηγούμενο μεταβιοτικό *Lactobacillus plantarum* L137 δεν επηρέασε τους τίτλους αντισωμάτων μετά την πρώτη και δεύτερη δόση. Τα επίπεδα όμως INF-β ήταν υψηλότερα.

Με χορήγηση μεταβιοτικού *Lactobacillus rhamnosus* GG σε άτομα 18-65 ετών που είχαν προσβληθεί από ανθρώπινο ρινοϊό (HRV), δεν παρατηρήθηκε επίδραση στο ικό φορτίο σε σχέση με το εικονικό χορηγούμενο φάρμακο.

Το **υπερκείμενο χωρίς κύτταρα του *Lactobacillus plantarum* probio-88**, μελετήθηκε ως προς τη δράση του *in vitro* σε κύτταρα HeLa και HEK293, έναντι του ιού SARS-CoV-2. Τα αποτελέσματα έδειξαν αναστολή της αντιγραφής. Αυτό επιτεύχθηκε μέσω της δράσης των βακτηριοσινών πλανταρική E (PInE) και πλανταρική F (PInF). Ο SARS-CoV-2 σε υπερδραστήριο ανοσοποιητικό σύστημα, προκαλεί καταιγίδα κυτοκινών, οδηγώντας σε αναπνευστική δυσχέρεια και τελικά μπορεί να πλήξει και άλλα όργανα εκτός του αναπνευστικού. Η ενεργοποίηση των φαγοκυττάρων κατά την ιογενή μόλυνση οδηγεί σε απελευθέρωση ROS. Η υπερπαραγωγή όμως ROS, μπορεί να οδηγήσει σε επιδείνωση της νόσου. Ο ιός και τα συστατικά του, καθώς και τα αυξημένα επίπεδα ROS, ενεργοποιούν την οδό ERK. Η φωσφορυλίωση του ERK οδηγεί στην παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών. Η nsp13 χρησιμοποιεί ATP ως πηγή ενέργειας για τη διαδικασία της εκτύλιξης. Επομένως, υπάρχουν θέσεις σύνδεσης για ATP και μονόκλωνο RNA (ssRNA). Οι PInE και PInF εμφανίζουν συγγένεια για αυτές τις θέσεις με αποτέλεσμα να τις καταλαμβάνουν. Η nsp13 είναι παρόμοια μεταξύ των ειδών κορονοϊού. Επομένως η στόχευση αυτής στοχεύει και συγγενικά είδη του SARS-CoV-2, όπως SARS-CoV και MERS-CoV. Συγκεκριμένα συνδέονται μέσω δεσμών υδρογόνου στην ελικάση nsp13 του ιού και μάλιστα με σύνδεση υψηλής συγγένειας. Το μεταβιοτικό αυτό ανέστειλε την παραγωγή ROS και μείωσε τα επίπεδα των φλεγμονωδών κυτοκινών INF- $\alpha$ , INF- $\beta$  και IL-6. Χρησιμοποιήθηκαν συγκεντρώσεις μεταβιοτικού από 50 έως 250 mg/ml. Βρέθηκε ότι η δόση των 100 mg/ml ανέστειλε την αναπαραγωγή του ιού έχοντας ασθενή κυτταροτοξική δράση. Τα επίπεδα ROS με αυτή τη δόση μειώθηκαν κατά 1,2 φορές. Μεγάλη μείωση σημειώθηκε και στην έκφραση του φωσφορυλιωμένου ERK. Με βάση αυτά τα στοιχεία επιλέχθηκε η δόση των 100 mg/ml ως η πιο αποτελεσματική (45).

### **Ενίσχυση ανοσοποιητικού σε υποσιτισμένους οργανισμούς**

Η στέρηση πρωτεΐνης οδηγεί σε ατροφία του λεμφικού ιστού, του θύμου και του σπλήνα. Αυτό έχει ως συνέπεια τη μείωση των CD4 και CD8 T κυττάρων. Επιπλέον, η διατροφική στέρηση οδηγεί σε μειωμένο αριθμό και διαφοροποίηση των B κυττάρων στον μυελό των οστών και στο σπλήνα. Η **πεπτιδογλυκάνη από το *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 (PG05)** ενεργοποιεί τα μακροφάγα στα κύτταρα των κυψελίδων και του σπλήνος, αυξάνοντας παράλληλα τον αριθμό τους. Η ανοδική αυτή ρύθμιση διαμεσολαβείται από την αυξημένη έκφραση του συστήματος MHC II στα κύτταρα των πνευμόνων και του σπλήνα. Η PG05 χορηγούμενη ρινικά σε υποσιτισμένα ποντίκια χωρίς μόλυνση, μπόρεσε να μεταναστεύσει από την τοπική μικροχλωρίδα στα ουδετερόφιλα του μυελού των οστών, διεγείροντας έτσι τη μυελοποίηση. Πιο συγκεκριμένα, με ρινική χορήγηση PG05 σε ποντίκια χωρίς μόλυνση και με υποσιτισμό, παρατηρήθηκε ενεργοποίηση της παραγωγής T κυττάρων από το θύμο αδένα, το σπλήνα και το μυελό των οστών. Επιπλέον, η PG05 κατάφερε να επάγει την Th2 απόκριση, αυξάνοντας την παραγωγή IL-4 τόσο σε τοπικό ρινικό επίπεδο όσο και συστηματικά. Ακόμη μέσω της Th2 απόκρισης, αυξήθηκε η παραγωγή και η ωρίμανση B κυττάρων με την παραγωγή IgA, IgM, IgG αντισωμάτων. Η IL-10 αυξήθηκε σε βρογχοκυψελιδικά κύτταρα. Η IL-10 με τη σειρά της αύξησε τα ουδετερόφιλα στους αεραγωγούς και μείωσε την προκαλούμενη από πνευμονιόκοκκο

βλάβη. Τα επίπεδα της IFN- $\gamma$  και της IL-2 αυξήθηκαν. Αυτή η αύξηση στα επίπεδα της IL-2 οδήγησε σε επαγωγή των CD4<sup>+</sup>T κυττάρων. Ακόμη, η χορήγηση PG05 μείωσε τα επίπεδα TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6. Η επιρροή του λεμφικού ιστού στο αναπνευστικό με τους παραπάνω μηχανισμούς, οδηγεί σε ανάκτηση των λειτουργιών στο μυελό των οστών, το θύμο αδένα και τον σπλήνα, αυξάνοντας την αντίσταση στη μόλυνση από *Streptococcus pneumoniae*.

Το μεταβιοτικό αυτό επομένως, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ανοσοενισχυτικό σε ανοσοκατεσταλμένους οργανισμούς (46), (47).

### **Παχυσαρκία**

Σε ποντικούς C57BL/6J που ακολουθούσαν δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και φρουκτόζη (HFFrD) χορηγήθηκε το πρεβιοτικό GSF, αλεύρι σταφυλιού πλούσιο σε πολυφαινόλες και το μεταβιοτικό HLAB, νεκρά από θερμότητα βακτήρια γαλακτικού οξέος, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*. Ο συνδυασμός του πρεβιοτικού και του μεταβιοτικού, είχε θετικά αποτελέσματα ενάντια στην παχυσαρκία. Παρατηρήθηκε μείωση στην αύξηση του σωματικού βάρους, μείωση στο βάρος του λιπώδους ιστού και του ήπατος, μείωση των τριγλυκεριδίων στο πλάσμα. Ακόμη, σημειώθηκε καθοδική ρύθμιση των γονιδίων της απτοσφαιρίνης (HP), της Wfdc21 πρωτεΐνης, της Fabp4 και Fasn στο λιπώδη ιστό. Οι Fabp4 και Fasn πρωτεΐνες σχετίζονται με τη σύνθεση λιπαρών οξέων στα λιποκύτταρα και οι HP και Wfdc21 με τη φλεγμονή σε αυτά. Τα EPS του HLAB αποδείχθηκε ότι διαμόρφωσαν την εντερική μικροχλωρίδα, προώθωντας την ανάπτυξη μικροοργανισμών όπως *Akkermansia*, τα οποία συμμετέχουν σε οδούς που ελέγχουν τον μεταβολισμό. EPS από *L. kefir* (LKDH 5) και *L. mesenteroides* (LMDH 4,7) παρουσίασαν με δοσοεξαρτώμενο τρόπο μέγιστη αναστολή συσσώρευσης λιπιδίων λόγω αναστολής της παγκρεατικής λιπάσης. Οι δράσεις των EPS μελετήθηκαν in vitro. Οι βέλτιστες δόσεις σημειώθηκαν στα 0,01 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml (48).

**LTA που απομονώθηκε από το *L.paracasei* D3-5** χορηγήθηκε σε ηλικιωμένα ποντίκια που τρέφονταν με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά (HF). Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση των μεταβολικών δυσλειτουργιών, της φλεγμονής, βελτίωση του διαρρέοντος εντέρου. Αυτό επιτεύχθηκε μέσω παρεμβολής σε σηματοδοτικά μονοπάτια MAPK, NF-kB. **LTA από το *L.rhamnosus* GG** έδειξε δοσοεξαρτώμενη ενεργοποίηση της NF-kB σηματοδότησης σε Caco-2 και HEK293T κύτταρα. Επιπλέον, στα Caco-2 κύτταρα ενεργοποίησε την έκφραση της προφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-8. **LTA απομονωμένο από *L.plantarum* K8** ρύθμιζε την ισορροπία ανάμεσα στην Th1 και την Th2 απόκριση. Αυτό είχε ως επακόλουθο την αύξηση της IL-10 και τη μείωση του TNF- $\alpha$  (39). Το **LTA του *L.plantarum*** μελετήθηκε ως προς την επίδρασή του στη φλεγμονή σε επιθηλιακά κύτταρα χοίρου και ανθρώπου, προκαλούμενη από Pam2CSK. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της έκφρασης της IL-8.

**EPS από *L.rhamnosus*** χορηγούμενο σε ποντίκια μείωσε τα επίπεδα των εστέρων χοληστερόλης και των τριακυλογλυκερολών (14).



### Υπερχοληστερολαιμία-Αθηροσκλήρυνση

Το *Bifidobacterium longum* εκτέθηκε σε υπερήχους και αιωρήθηκε σε αλατούχο διάλυμα. Το παραγόμενο μεταβιοτικό σε συγκέντρωση  $10^8$ - $10^9$  CFU/ml, εμφάνισε υποχοληστερολαιμική δράση σε αρουραίους. Συγκεκριμένα, μείωσε την LDL χοληστερόλη, την ολική χοληστερόλη και τον αθηρογόνο δείκτη. Ακόμη, εμφανίσθηκε μείωση στην αύξηση του βάρους του σώματος και του βάρους του ήπατος, ενώ η περιεκτικότητα των κοπράνων σε νερό αυξήθηκε. Εκκρινόμενα συστατικά ανέστειλαν τη σύνθεση χοληστερόλης, άλλα την απορρόφηση αυτής, ενώ άλλα αύξησαν την αποβολή χολικών αλάτων (49).

Τα παραγόμενα από *Lachnospiraceae*, *Ruminococcus*, *Oscilospira* SCFAs, αναστέλλουν την προκαλούμενη από το N-οξειδίο της τριμεθυλαμίνης (TMAO) θρόμβωση. Η μικροχλωρίδα του εντέρου μεταβολίζει τη χολίνη και την L-καρνιτίνη και παράγεται η τριμεθυλαμίνη (TMA). Η TMA διαπερνά τον BBB και οξειδώνεται στο ήπαρ σε TMAO. Πειραματικές μελέτες απέδειξαν ότι η συμπλήρωση στη διατροφή ποντικών TMAO, χολίνης ή καρνιτίνης, οδήγησε σε αθηροσκλήρυνση μέσω της ανοδικής ρύθμισης της πρωτεΐνης CD-36, του υποδοχέα SR-A1 στα μακροφάγα, μείωσης της αντίστροφης μεταφοράς χοληστερόλης. Επιπλέον, το TMAO αύξησε την εξαρτώμενη από το ερέθισμα απελευθέρωση  $Ca^{2+}$ , ενισχύοντας έτσι την υπεραντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων. Όλα τα παραπάνω συμβάλλουν στο σχηματισμό θρόμβου (50). Το TMAO ενεργοποιεί τις σηματοδοτικές οδούς MAPK, NF-κB, την προσκόλληση ενδοθηλιακών κυττάρων- λευκοκυττάρων και την έκφραση γονιδίων σχετιζόμενων με τη φλεγμονή, οδηγώντας έτσι σε ανάπτυξη αθηροσκλήρυνσης (51). Το TMAO επομένως αποτελεί στόχο σε ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα (CVD) (50).

Τα δεδομένα από την παρέμβαση με μεταβιοτικά σε μοντέλα με CVD είναι ελλιπή προς το παρόν, για αυτό θα χρειαστούν περαιτέρω διευκρινήσεις (50).

### Σακχαρώδης διαβήτης

Από μελέτες σε ζώα με διαβήτη τύπου I και II, βρέθηκαν αλλαγές στο γαστρεντερικό μικροβίωμα. Πιο συγκεκριμένα ανιχνεύτηκε απώλεια μικροβίων που παράγουν βουτυρικό οξύ, αύξηση των ευκαιριακών μικροοργανισμών, μείωση στον αριθμό των γονιδίων που σχετίζονται με τον μεταβολισμό, αλλαγές στην ενζυμική δραστηριότητα και στη μεταφορά θρεπτικών συστατικών. Τα παραπάνω επηρεάζουν την απόκριση στο οξειδωτικό στρες καθώς και τις συγκεντρώσεις των SCFAs. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί αλλοιωμένη εντερική διαπερατότητα και διαρροή. Όλα αυτά συμβάλλουν στην αλλαγή της συχνότητας των εντερικών κινήσεων και στην εμφάνιση μεταβολικής ενδοτοξιναιμίας και βακτηριαιμίας. Με αυτόν τον τρόπο προκαλείται φλεγμονή η οποία επηρεάζει την ευαισθησία στην ινσουλίνη και οδηγεί σε μεταβολικές επιπλοκές (11). Τα SCFAs αλληλεπιδρώντας με υποδοχείς συζευγμένους με G πρωτεΐνη προωθούν την έκκριση GLP-1 από το άνω τμήμα του λεπτού εντέρου (52). Οι κακές διατροφικές συνήθειες και η παχυσαρκία οδηγούν το παραγόμενο από την εντερική μικροχλωρίδα LPS να διασχίσει τον εντερικό φραγμό. Η ήπια και χρόνια αύξηση στην κυκλοφορία των συγκεντρώσεων του LPS έχει ως συνέπεια την ενεργοποίηση οργάνων που ανταποκρίνονται στην

ινσουλίνη. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται μεταβολική ενδοτοξιναιμία. Η μεταβολική ενδοτοξιναιμία, ωθεί την έναρξη ή την επιδείνωση ήπιας φλεγμονής που συνδέεται με την αθηρογένεση, τη δυσγλυκαιμία, την αντίσταση στην ινσουλίνη. Το **Amuc 1100**, μία πρωτεΐνη pili, απομονώθηκε **από το θερμικά νεκρό *Akkermansia muciniphila***. Το Amuc 1100 χορηγούμενο σε παχύσαρκα ποντίκια προκαλεί αύξηση της λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL), βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, ενεργοποίηση των TLR2 υποδοχέων και βελτίωση της μεταβολικής ενδοτοξιναιμίας. (55).

**Ο EPS από το *Bacillus licheniformis*** έδρασε αποτελεσματικά κατά του οξειδωτικού στρες, συμβάλλοντας έτσι στην προστασία ιστών και οργάνων από διαβητικές επιπλοκές.

**Ο EPS από το *L.plantarum S1S2L2*** in vitro ανέστειλε τη δράση του ενζύμου α-αμυλάσης, μειώνοντας την παραγωγή γλυκόζης.

**EVs από *Akkermansia muciniphila*** βελτίωσαν την ανοχή στη γλυκόζη και μείωσαν τον κίνδυνο εμφάνισης μεταβολικής ενδοτοξιναιμίας μέσω της ενίσχυσης των πρωτεϊνών σφιχτής σύνδεσης, συμβάλλοντας έτσι στην καλύτερη λειτουργία του εντερικού φραγμού.

**Από το *Bacillus subtilis SPB1*** απομονώθηκαν **επιφανειοδραστικές ενώσεις** και χορηγήθηκαν σε πειραματικά μοντέλα διαβήτη τύπου I και II. Και στα δύο μοντέλα τα αποτελέσματα έδειξαν βελτίωση του γλυκαιμικού και της δραστηριότητας της α-αμυλάσης, καθώς και του λιπιδικού προφίλ. **Επιφανειοδραστικές ενώσεις από το *Lactobacillus rhamnosus GG*** χορηγούμενες σε μοντέλο μεταβολικών διαταραχών, αποκάλυψαν βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, στο λιπιδικό προφίλ και αποτροπή της ηπατικής στεάτωσης.

Το **νεκρό *Bacillus longum BR-108*** χορηγούμενο σε ποντίκια που έπασχαν από παχυσαρκία λόγω γενετικών διαταραχών, εμφάνισε ικανοποιητική δράση αφού βελτίωσε τους δείκτες λιπιδίων, της γλυκόζης και μείωσε την αύξηση βάρους μέσω της ηπατοπροστατευτικής δράσης του.

Χορήγηση νεκρού ***Bacillus animalis subsp.lactis Bb-12*** σε υγιείς αρουραίους έδειξε υποχοληστερολαιμική και υπογλυκαιμική δράση.

**Αδρανοποιημένο *Akkermansia muciniphila*** χορηγούμενο σε ποντίκια C57BL/6J που τρέφονταν με HF, μείωσε τα επίπεδα λεπτίνης καθώς και της διαμέτρου των λιποκυττάρων.

In vitro πείραμα με ανθρώπινα εντεροκύτταρα τύπου NGN3, καλλιεργήθηκαν με **υπερκείμενο *Staphylococcus epidermidis JA1***. Τα αποτελέσματα έδειξαν ενίσχυση του GLP-1. Η δράση αυτή αποδόθηκε στην πρωτεΐνη p40 ή p75.

Η χορήγηση από του στόματος **απενεργοποιημένου με θερμότητα *Lactobacillus brevis SBC8803*** σε αρουραίους, αύξησε την παραγωγή ακυλο-γκρελίνης. Αυτό οδήγησε σε αύξηση της αναλογίας ακυλο προς διακυλο-γκρελίνης (ανενεργή) στο αίμα. Η χορήγησή του σε ποντίκια αύξησε την έκφραση της συναπτοταγμίνης 3. Η πρωτεΐνη αυτή ωθεί την εξωκυττάρωση γκρελίνης από τα κύτταρα του στομάχου (11).

**Απενεργοποιημένο με ωμική θέρμανση *Lactobacillus casei 01***, προστέθηκε σε ρόφημα ορού γάλακτος, προκειμένου να μελετηθεί η επίδρασή του στη μεταγευματική γλυκαιμία. Αξιολογήθηκε η ικανότητά του να αναστέλλει τα ένζυμα α-αμυλάση και α-γλυκοσιδάση. Η μελέτη διεξήχθη σε 15

υγιή άτομα τα οποία χωρίστηκαν σε 3 ομάδες και τους χορηγήθηκε 100 ml του βακτηριακού εναιωρήματος. Πιο συγκεκριμένα, η πρώτη ομάδα τράφηκε με ψωμί και ρόφημα γάλακτος με προβιοτικό. Η δεύτερη ομάδα με ψωμί και ρόφημα γάλακτος με το μεταβιοτικό. Η τρίτη ομάδα μόνο με ψωμί (ομάδα ελέγχου). Τα αποτελέσματα ανάμεσα στην πρώτη και τη δεύτερη ομάδα ήταν όμοια. Παρουσιάστηκε μείωση στη γλυκαιμική απόκριση μέσω αναστολής της α-αμυλάσης και α-γλυκοσιδάσης. Η δράση αυτή στα ένζυμα πιθανολογείται ότι σχετίζεται με την παρουσία SCFAs και EPS. Η μεταγευματική υπεργλυκαιμία είναι μία από τις εμφανιζόμενες κακοήθειες του διαβήτη. Η αναστολή των παραπάνω ενζύμων καθυστερεί την υδρόλυση υδατανθράκων, μειώνοντας έτσι την απορρόφηση της γλυκόζης και την αύξηση των επιπέδων της στο αίμα. Τα συνθετικά ανάλογα των ενζύμων προκαλούν παρενέργειες από το γαστρεντερικό. Η πρωτεΐνη ορού γάλακτος έχει ινσουλινοειδή δράση, συμβάλλοντας στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης. Το μεταβιοτικό αυτό θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (54).

Είναι πιθανό η χρονική εξέλιξη του διαβήτη, η εθνικότητα, το φύλο, η διατροφή να έχουν αντίκτυπο στην ανταπόκριση του γαστρεντερικού συστήματος στη δράση των μεταβιοτικών. Δεν υπάρχουν αρκετές μελέτες σε ανθρώπους που να επικυρώνουν τη θετική επίδραση των μεταβιοτικών στον σακχαρώδη διαβήτη. Ωστόσο, στις *in vitro* μελέτες τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε συνδυασμό με την έλλειψη παρενεργειών, παροτρύνουν για περαιτέρω διερεύνηση προς αυτή την κατεύθυνση (53). Χρειάζονται μελέτες σε διαβητικά άτομα, διεξαγωγή τους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα καθώς και σε άτομα με διαιτητικές ιδιαιτερότητες (54).

### **Θερμογένεση**

Μελετήθηκε η επίδραση μεταβιοτικών στην προσαρμοζόμενη θερμογένεση. Ως BAT ορίζεται ο φαιός λιπώδης ιστός και ως WAT ο λευκός. Τα φαιά σωματίδια εντός του WAT και ο BAT συμμετέχουν στην προσαρμοστική θερμογένεση, συμβάλλοντας στην ενεργειακή δαπάνη και τη διατήρηση φυσιολογικού σωματικού βάρους. Η μιτοχονδριακή πρωτεΐνη φορέας (UCP-1) συμμετέχει στην αποσύνδεση της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης κυρίως στον BAT αλλά και σε φαιά σωματίδια στο WAT. Σε ενήλικες έχει περιγραφεί η παρουσία ενεργών περιοχών BAT ως απόκριση σε αδρενεργικά ερεθίσματα στις παρασπονδυλικές, υπερκλείδιες, μασχαλιαίες και αυχενικές περιοχές. Η έκθεση στο κρύο και η υπερβολική σίτιση είναι οι κύριες αιτίες θερμογένεσης. Το συμπαθητικό νευρικό σύστημα (SNS) παίζει καθοριστικό ρόλο. Η ενεργοποίηση του SNS από θερμογόνους παράγοντες, οδηγεί στην απελευθέρωση νορεπινεφρίνης η οποία με τη σειρά της προάγει την έκφραση UCP-1. Έχει αποδειχθεί ότι η έκθεση στο κρύο προκαλεί αλλαγές στη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος. Οι αλλαγές αυτές σχετίζονται με τη θερμογένεση από τα φαιά σωματίδια WAT και από τον BAT.

Τα **χολικά οξέα** και τα **SCFAs** συμμετέχουν στη διέγερση θερμογένεσης. Στο ήπαρ από τη χοληστερόλη συντίθεται τα πρωτογενή χολικά οξέα. Στους ανθρώπους συντίθενται το χηνοδοξυχολικό οξύ (CDCA) και το χολικό οξύ (CA). Τα πρωτογενή αυτά χολικά οξέα συζεύγγονται με ταυρίνη ή γλυκίνη

πριν την έκκρισή τους σχηματίζοντας χολικά άλατα. Τα χολικά άλατα λειτουργούν ως γαλακτωματοποιητές λιπιδίων. Οι μικροοργανισμοί του εντέρου μεταβολίζουν πρωτογενή χολικά οξέα και παράγονται τα δευτερογενή χολικά οξέα. Τα πιο συνηθισμένα είναι το λιθοχολικό οξύ (LCA) που προέρχεται από το CDCA και το δεοξυχολικό οξύ (DCA) που προέρχεται από το CA (46). Γενικά, το 5% των πρωτογενών χολικών οξέων διαφεύγουν της επαναρρόφησης από τα κύτταρα του εντέρου και καταλήγουν στο κόλον. Εκεί, μέσω της τοπικής μικροχλωρίδας δημιουργούνται τα δευτερογενή χολικά οξέα. Επομένως, η σχέση μεταξύ των χολικών οξέων και της μικροχλωρίδας του εντέρου είναι αμφίδρομη (28). Περιβαλλοντικές συνθήκες που επηρεάζουν τη μικροχλωρίδα του εντέρου επηρεάζουν τη σύνθεση δευτερογενών χολικών οξέων. Ποντικοί C57BL/J που εκτέθηκαν στους 12°C για μία ημέρα, εμφάνισαν μειωμένα επίπεδα Lactobacillus. Αυτό είχε ως συνέπεια την αύξηση των συζευγμένων με αμινοξέα πρωτογενών χολικών οξέων. Το είδος Lactobacillus διαθέτει τη μέγιστη ικανότητα μεταβολισμού χολικών. Επιπλέον το κρύο αύξησε την έκφραση γονιδίων σχετικών με τη σύνθεση χολικών οξέων. Τα χολικά οξέα μέσω της ενεργοποίησης του FXR και του TGR5 υποδοχέα, συμμετέχουν σε μεταβολικές οδούς που ρυθμίζουν τη θερμογένεση. Η ενεργοποίηση του TGR5 προάγει την έκφραση της θυρεοτροπίνης (TSH), αυξάνοντας έτσι στις BAT περιοχές τη θερμογένεση. Σε ποντίκια C57BL/6J που λάμβαναν δίαιτα HF, συμπληρώθηκε στη διατροφή τους CA. Τα αποτελέσματα έδειξαν πρόληψη της παχυσαρκίας μέσω της αύξησης της ενεργειακής δαπάνης. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της ενεργοποίησης στο BAT θερμογένεσης. Πιο συγκεκριμένα, η ενεργοποίηση από το CA του TGR5 αύξησε την παραγωγή cAMP. Το cAMP με τη σειρά του προήγαγε την έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που σχετίζονται με τη θερμογένεση μέσω ενεργοποίησης του BAT. Αυτές είναι η UCP-1, η τριωδοθυρονίνη (T3), ο γάμμα συνεργοποιητής 1α και 1β (PGC1α,1β), η ακονιτάση I (ACO-1), η καρνιτίνη παλμιτολυοτρανσφεράση I (mCPT). In vitro έρευνες έδειξαν ότι τα συζευγμένα με ταυρίνη CA και DCA αυξάνουν επίσης τα επίπεδα cAMP μέσω της ενεργοποίησης του TGR5 υποδοχέα, προάγοντας έτσι τη θερμογένεση. Τα β-Klotho KO ποντίκια παρουσιάζουν αντίσταση στην παχυσαρκία. Αυτό οφείλεται στην αυξημένη παραγωγή CA στο ήπαρ με επακόλουθο την περίσσεια DCA. Το DCA είναι ισχυρός ενεργοποιητής του TGR5 υποδοχέα.

Σε ποντίκια που τρέφονταν με δίαιτα HF, συμπληρώθηκαν στη διατροφή τους για τέσσερις εβδομάδες άλατα οξικού, προπιονικού και βουτυρικού οξέος σε αναλογία 3,7% /4,3% /5%. Τα αποτελέσματα έδειξαν προστασία από την προκαλούμενη αντίσταση στην ινσουλίνη και την παχυσαρκία. Το προπιονικό και το βουτυρικό οξύ διέγερσε εντερικές ορμόνες, μειώνοντας έτσι την πρόσληψη τροφής. Το προπιονικό επίσης μέσω της καθοδικής ρύθμισης της σύνθεσης στο ήπαρ λιπαρών οξέων, ανέστειλε τη λιπογένεση. Το οξικό οξύ δρα και ως λιπογόνο υπόστρωμα. Άρα η αναλογία οξικού/προπιονικού παίζει σημαντικό ρόλο στη λιπογένεση. Η εντερική γλυκονογένεση που προκαλείται μέσω του προπιονικού και του βουτυρικού οξέος οδήγησε σε ομοιόσταση της γλυκόζης, μείωση λιπαρών και του σωματικού βάρους. Μάλιστα, έχει αποδειχθεί ότι το βουτυρικό μπορεί να επιδρά άμεσα στην εντερική γλυκονογένεση μέσω της ενεργοποίησης της κυτταροσολικής φωσφοφυλλοκυβινικής καρβοξυκινάσης (PCK1) και της γλυκοζο-6-φωσφατάσης (G6PC) ενώ το προπιονικό έμμεσα μέσω FFAR3

υποδοχέα. Το οξικό οξύ σε διαβητικά ποντίκια KK-A μείωσε την υπεργλυκαιμία μέσω της καθοδικής ρύθμισης των γονιδίων που σχετίζονται με τη λιπογένεση και τη γλυκονογένεση στο ήπαρ. Το οξικό μέσω FFAR2 αύξησε την έκφραση των πρωτεϊνών UCP1, PGC1α. Πειραματικά δεδομένα απέδειξαν ότι το οξικό οξύ αυξάνει τη δράση των φαιών σωματιδίων WAT και του BAT. Σε ποντίκια που έλαβαν για έξι εβδομάδες πόσιμο νερό με οξικό νάτριο αναφέρθηκε αύξηση της έκφρασης των γονιδίων UCP1, PGC1α. Χορήγηση βουτυρικού για δώδεκα εβδομάδες σε ποντίκια που τρέφονταν με HF έδειξε αύξηση στην έκφραση των UCP1, PGC1α στο BAT. Μάλιστα, έρευνες απέδειξαν ότι χρόνια συμπλήρωμα βουτυρικού προλαμβάνει την προκαλούμενη από δίαιτα παχυσαρκία. Το προπιονικό οξύ αυξάνει τη δραστηριότητα SNS στα συμπαθητικά γάγγλια μέσω του FFAR3 υποδοχέα οδηγώντας σε αύξηση της κατανάλωσης ενέργειας. Σε ποντίκια η αναστολή της δράσης του FFAR3 οδήγησε σε μείωση της UCP1 στα BAT (56).

### **Οστεοκλαστογένεση**

Μελετήθηκαν τα υπερκείμενα και τα λύματα (βιομάζες χωρίς κύτταρα) των προβιοτικών στελεχών *Lactobacillus acidophilus*, *L.casei*, *L.reuteri*, *Bifidobacterium longum* και *Bacillus coagulans* ως προς την επίδρασή τους στην οστική πυκνότητα (BMD) μηριαίου οστού, σπονδυλικής στήλης και κνήμης, σε αρουραίους Sprague-Dawley που είχαν υποστεί ωθηκεκτομή (OVX). Οι αρουραίοι αμέσως μετά την OVX τροφοδοτήθηκαν με  $1 \times 10^9$  CFU/ml/ημέρα μεταβιοτικού σκευάσματος επί 4 εβδομάδες. Η αξιολόγηση της οστικής πυκνότητας έγινε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο DEXA και μετρώντας στον ορό τα επίπεδα ασβεστίου, φωσφόρου και αλκαλικής φωσφατάσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η BMD αυξήθηκε σημαντικά κατόπιν χορήγησης λύματος και υπερκείμενου *L.casei* και *Bacillus coagulans*, υπερκείμενου *L.reuteri*, λύματος *Lactobacillus acidophilus*, λύματος *Bifidobacterium longum*. Τα μεταβιοτικά αυτά βελτίωσαν την οστική απώλεια λόγω ανεπάρκειας οιστρογόνων. Πιο συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι τα μεταβιοτικά αυτά δεν αύξησαν σημαντικά τη συγκέντρωση του ασβεστίου στον ορό, με εξαίρεση αυτά των *Bifidobacterium longum* και *Bacillus coagulans*. Το λύμα του *Lactobacillus acidophilus* μείωσε σημαντικά τα επίπεδα του φωσφόρου, ενώ το υπερκείμενο του *Bacillus coagulans* μείωσε σημαντικά την αλκαλική φωσφατάση στον ορό (ALP). Τα περιεχόμενα SCFAs μείωσαν τα επίπεδα της παραθυρεοειδικής ορμόνης (PTH) με συνέπεια να αυξάνεται η απορρόφηση μετάλλων και να μειώνεται η ALP. Η συγκέντρωση της ALP στον ορό αντικατοπτρίζει την οστεοβλαστική δραστηριότητα. Το υπερκείμενο της κυτταρικής καλλιέργειας του *L.reuteri* κατέστειλε στους οστεοκλάστες τη διαφοροποίηση μονοκυττάρων, μακροφάγων, με επακόλουθο την καταστολή της οστικής απώλειας. Το υπερκείμενο του *Lactobacillus acidophilus* διέγειρε τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την ωρίμανση των οστεοβλαστών. **Υπερκείμενο καλλιέργειας από *L. salivarius* MG4265** χορηγήθηκε σε αρουραίους που είχαν υποστεί ωθηκεκτομή. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της οστικής απώλειας. Η δράση τους αυτή επιτεύχθηκε μέσω αναστολής της επαγόμενης από RANKL ενεργοποίησης των σηματοδοτικών οδών NF-κB και MAPKs και επαγωγής της έκφρασης HO-1 οδηγώντας σε αναστολή της έκφρασης των

γονιδίων των πρωτεασών MMP-9, καθεψίνη K, TRAP, καθώς και των μεταγραφικών παραγόντων NFATc1 και c-fos.

Επιπλέον κλινικές μελέτες απαιτούνται ώστε να διευκρινισθεί η βέλτιστη δόση και η διάρκεια δράσης των παραπάνω μεταβιοτικών. Το λύμα του *Lactobacillus acidophilus* μείωσε σημαντικά τα επίπεδα του φωσφόρου. Αυτό καταδεικνύει και τις αρνητικές επιδράσεις που μπορεί να έχουν τα μεταβιοτικά. Αφορμή για την παραπάνω έρευνα αποτέλεσε το γεγονός ότι η μεταβολή της εντερικής μικροβίωσης επηρεάζει την οστική ομοιόσταση και επιπρόσθετα ότι τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την οστεοπόρωση προκαλούν σοβαρές παρενέργειες (57).

### **Δερματικές βλάβες**

Υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της ομοιόστασης του γαστρεντερικού και της ομοιόστασης του δέρματος. Ο άξονας δέρμα-έντερο δεν επηρεάζεται μόνο από τη διατροφή, αλλά και από την UV ακτινοβολία και τοπικές αλλεργίες. Το δέρμα μέσω των κερατινοκυττάρων και των σημηματοκυττάρων του, συμμετέχει στο έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα. Τα κύτταρα αυτά αλληλεπιδρούν με το μικροβίωμα του δέρματος. Τα σημηματοκύτταρα και τα βακτήρια εκκρίνουν AMPs. Μία νέα στρατηγική για την αντιμετώπιση της διαταραγμένης δερματικής μικροβιακής ομοιόστασης και των δερματικών βλαβών είναι η χρήση μεταβιοτικών.

Παρεμβαίνοντας με μεθόδους γενετικής μηχανικής στα *Staphylococcus epidermidis* και *Cutibacterium acnes* παράχθηκαν ενεργές βιοθεραπευτικές ουσίες, **Η φιλαγγρίνη, το LEKT1, η IL-10.**

Η φιλαγγρίνη είναι νημάτιο εντός της κεράτινης στιβάδας. Τα μονομερή φιλαγγρίνης ενσωματώνονται στο λιπιδαιμικό περίβλημα σχηματίζοντας το δερματικό φραγμό. Η φιλαγγρίνη εξισορροπεί το pH του δέρματος. Ακόμη, αλληλοεπιδρώντας με τα νημάτια ακτίνης στη άνω στιβάδα της κεράτινης, συμβάλλει στην κατακράτηση νερού. Μετάλλαξη στο νημάτιο της φιλαγγρίνης οδηγεί σε αυτοάνοσες δερματικές ασθένειες.

Το LEKT1 είναι ένας λεμφο-επιθηλιακός αναστολέας Kazal τύπου 5, ο οποίος παίρνει μέρος στη μορφογένεση του δέρματος και των μαλλιών. Το LEKT1 μπορεί να ρυθμίσει την απολέπιση του δέρματος.

Η IL-10 ρυθμίζει τη φλεγμονή.

Από το *Lactobacillus reuteri* παράχθηκε το **CXCL12**, μία χυμειοκίνη με μικρό χρόνο ημίσειας ζωής που συμβάλλει στην επούλωση των πληγών.

Παρά τα ευεργετικά τους αποτελέσματα, τα μεταβιοτικά μπορούν να συναντήσουν δυσκολία στην άσκηση της δράσης τους σε ένα περιβάλλον με πλούσιο σμήγμα. Η εταιρεία Azitra πραγματοποίησε κλινικές δοκιμές φάσεις I με τα παραπάνω μεταβιοτικά και τα αποτελέσματα αναμένονται (μέχρι τη στιγμή συγγραφής του άρθρου) (58).

Το **κυτταρικό λύμα από το *L.plantarum* K8** ερευνήθηκε για την πρόκληση ενυδάτωσης σε κερατινοκύτταρα ανθρώπου, HaCaT. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση της σύνθεσης υαλουρονικού οξέος-2 και αύξηση της έκφρασης υδατοπορίνης-3 μέσω αύξησης της έκφρασης των ενζύμων HAS2 και

AQP3. Πιθανολογείται ότι Ν-ακετυλογλυκοζαμίνη της πεπτιδογλυκάνης είναι το δραστικό συστατικό. Η τεχνική υψηλής πίεσης που εφαρμόστηκε στο προβιοτικό μπορεί να δημιουργήσει νανοσωματίδια που προέρχονται από τα μακρομόρια του κυτταρικού τοιχώματος και της κυτταρικής μεμβράνης. Κυτταροτοξικότητα δεν παρατηρήθηκε. Οι χρησιμοποιούμενες δόσεις κυμαίνονταν από 100 έως 1000 µg/ml. Όπως φάνηκε υπήρξε αναλογία δόσης-απόκρισης για κάθε μόριο στόχο. Αυτές οι ιδιότητες του το καθιστούν υποψήφιο συστατικό σε σκευάσματα ενυδάτωσης. Θα χρειασθούν μελέτες in vivo προκειμένου να διευκρινισθεί ο μηχανισμός δράσης και η δραστικότητα του μεταβιοτικού όταν χορηγείται από το στόμα (59).

Ο θερμικά φονευμένος *Lactococcus chungangensis* CAU 1447 χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη της επίδρασής του σε τραυματισμένο δέρμα ποντικών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου Ι. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της εκκρινόμενης από τα ουδετερόφιλα μυελοϋπεροξειδάση (MPO). Ακόμη, το μεταβιοτικό αυτό ρύθμιζε τη δράση αυξητικών παραγόντων, κυτοκινών και χυμειοκινών. Οι παραπάνω επιδράσεις προάγουν την αντιφλεγμονώδη δράση και την επούλωση του τραύματος. Οι διαβητικοί ασθενείς παρουσιάζουν διαταραγμένη επούλωση και καθυστέρηση στην αγγειογένεση. Η υπερπαραγωγή MPO ωθεί την παραγωγή ROS, επιβραδύνοντας έτσι τη διαδικασία της επούλωσης. Το πρώτο στάδιο στην επούλωση είναι η φλεγμονώδης φάση. Σε αυτή περιλαμβάνεται η έκκριση κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων από τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα. Η μείωση των επιπέδων της MPO επιτάχυνε την έκβαση στην επόμενη φάση του πολλαπλασιασμού. Το μεταβιοτικό αύξησε την έκφραση των γονιδίων των αυξητικών παραγόντων VEGF, PDGF, FGF, TGF-β1 στον τραυματισμένο ιστό του δέρματος. Οι χυμειοκίνες CCL2 και CXCL4 μέσω της προκαλούμενης διήθησης των μακροφάγων συμμετέχουν στην κοκκοποίηση, την επαναεπιθηλιοποίηση και τη φλεγμονή. Με αυτόν τον τρόπο επιταχύνουν την επούλωση. Η αυξημένη έκφραση των IL-4, IL-6, IL-10, TNF-α κυτοκινών, λόγω της μεταβιοτικής θεραπείας στον τραυματισμένο ιστό, ώθησε την επούλωση μέσω της συμμετοχής τους σε όλες τις φάσεις της. Το μεταβιοτικό αύξησε τις συγκεντρώσεις των *Pseudomonas* spp, *Staphylococcus* spp και μείωσε των *Proteus* spp. Τα συγκεκριμένα είδη υπάρχουν φυσιολογικά στο μικροβίωμα του δέρματος. Σε χρόνιες όμως πληγές και διαβητικά έλκη, παρατηρείται αύξηση των *Proteus* spp. Η αύξηση των *Pseudomonas* spp. επιτάχυνε την επούλωση μέσω ενίσχυσης της επιθηλιοποίησης. Η αύξηση των *Staphylococcus* spp. συνέβαλε στην παρεμπόδιση εισβολής παθογόνων στους τραυματισμένους ιστούς και καταστολή της φλεγμονής (60).

Από το διήθημα του *Bacillus coagulans* MTCC 5856 απομονώθηκε το LactoSporin, ένας εξωκυτταρικός μεταβολίτης. Η δράση του LactoSporin εξετάστηκε σε 64 άνδρες και γυναίκες με ήπια έως μέτρια ακμή. Το LactoSporin ανέστειλε τη δράση της 5-άλφα αναγωγάσης των βακτηρίων *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* και *epidermidis*, *Cutibacterium acnes*. Ακόμη, μείωσε τοπικά το pH και απομάκρυνε τα ιόντα, ασκώντας έτσι την αντιμικροβιακή δράση του. Τα χαρακτηριστικά του αυτά το καθιστούν αποτελεσματικό στην αντιμετώπιση της ακμής.

Το LactoSporin είναι σταθερό στη θερμοκρασία και σε όξινο pH. Κρέμα που περιείχε LactoSporin σε συγκέντρωση 2% αποδείχθηκε δερματολογικά ασφαλής. Οι σημηματογόνες εκκρίσεις μειώθηκαν,

όπως και οι φλύκταινες αλλά και ο αριθμός των βλατιδών. Το ένζυμο 5-άλφα αναγωγή ρυθμίζει την αυξημένη παραγωγή τεστοστερόνης και διυδροτεστοστερόνης. Τα ανδρογόνα αυτά διεγείρουν τις εκκρίσεις των σημηματογόνων αδένων, δημιουργώντας έτσι ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη του *C.acnes*. Η αναστολή της δράσης του ενζύμου από το LactoSporin, το καθιστά αποτελεσματικό στον έλεγχο της λιπαρότητας (61).

Επιπλέον, το LactoSporin δέσμευσε τις ελεύθερες ρίζες στους δερματικούς ινοβλάστες, προστατεύοντας τους έτσι από την απόπτωση και τον κυτταρικό θάνατο που επάγονται από την υπερϊώδη ακτινοβολία. Ανέστειλε τη δράση των ενζύμων υαλουρονιδάση, κολλαγενάση, ελαστάση. Επίσης, αύξησε την έκφραση της συνθάσης υαλουρονικού και του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα EGF, αναστέλλοντας έτσι τη γήρανση (62).

Χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για το LactoSporin, σε περισσότερα γεωγραφικά πλάτη και με μεγαλύτερο πληθυσμό προκειμένου να διεξαχθούν ασφαλή αποτελέσματα (61).

### Διάφορες δράσεις

Το *L.casei*, το *L.paracasei* και *L.rhamnosus* ανέστειλαν μέσω των *S-layer* την προσκόλληση του *Shigella sonnei* στα HT-29 κύτταρα. Από τα *L.helveticus fb213*, *L.acidophilus fb214*, *L. acidophilus fb116* οι *S-layer* ανέστειλαν την εισβολή του *E.coli* ATCC 43893 στα HT-29 κύτταρα.

Το *SpaCBA pili* από το *L.rhamnosus GG* δεσμεύεται στο εντερικό επιθήλιο, τις εντερικές βλέννες και το κολλαγόνο του ανθρώπινου οργανισμού. Με αυτόν τον τρόπο απέκλεισε την εισβολή παθογόνων όπως το *Enterococcus faecium*. Επιπλέον προώθησε τον πολλαπλασιασμό κυττάρων στο επιθήλιο και στις κρύπτες μέσω της ενεργοποίησης της φωσφορυλίωσης ERK και προστατεύσε από ακτινολογικές βλάβες μέσω δημιουργίας ROS.

Από το *L.gasseri* ATCC 9857 απομονώθηκε το APF-2. Η πρωτεΐνη αυτή ανέστειλε την προσκόλληση στα ανθρώπινα κολπικά κύτταρα του *Trichomonas vaginalis*. Η συνεργική δράση της πρωτεΐνης GGDEF (*DgcA*) (διγουανυλική κυκλάση A που περιέχει την περιοχή GGDEF) από το *L.acidophilus* και της πρωτεΐνης APF από το *L.plantarum* NCIMB 8826 που είναι πλούσια σε σερίνη/θρεονίνη, οδήγησε σε αύξηση της παραγωγής EPS και ενίσχυσε τη συσσωμάτωση.

Η πρωτεΐνη p40 από τον *L.rhamnosus GG* ενεργοποίησε στα επιθηλιακά εντερικά κύτταρα τον υποδοχέα του EGFR και ανέστειλε την απόπτωση, ενισχύοντας έτσι τον εντερικό φραγμό και βελτιώνοντας την επούλωση των τραυμάτων. Το p75 που απομονώθηκε από τα *L.rhamnosus GG* και *L.casei* BL-23, εμφάνισε αντι-αποπτωτική δράση ενεργοποιώντας την οδό EGF/Akt. Ακόμη, οι p40 και p75 μέσω ενεργοποίησης των κινασών PKC και MAPK άσκησαν προστατευτική δράση στον επιθηλιακό εντερικό φραγμό (16).

Η παραγόμενη βακτηριοκίνη PJ4 από το *L.helveticus* PJ4, το οποίο προέρχεται από την εντερική μικροχλωρίδα αρουραίου, προκάλεσε αναστολή του εντερικού παθογόνου *E.coli*, ενώ η βακτηριοκίνη DT24 από το *L.brevis* DT24 το οποίο υπάρχει στην κολπική μικροχλωρίδα, ήταν ανασταλτικό έναντι του *E.coli* που προσβάλλει το ουροποιητικό. Η βακτηριοκίνη που απομονώθηκε από το



**L.acidophilus KS240** ήταν δραστική έναντι παθογόνων που προσβάλλουν το ουρογεννητικό όπως *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis*. Η παραγόμενη reuterin από το **L.reuteri**, τροποποιώντας τις ομάδεςθειώλης και μέσω πρόκλησης οξειδωτικού στρες, άσκησε την αντιβακτηριακή της δράση. Η **πλανταρική που απομονώθηκε από το L.plantarum WCFS1**, σε ποντίκια οδήγησε στην ανοδική ρύθμιση της δράσης των DCs (30).

Απουσία διαιτητικών ινών το *Citrobacter rodentium* ελλείπει πολυσακχαριτών, αποκτά μεγαλύτερη πρόσβαση στη βλεννογόνο στιβάδα του παχέος εντέρου. Η αυξημένη διείσδυση του *C. rodentium* έχει ως επακόλουθο την αύξηση των ενζύμων που χρησιμοποιούν βλεννίνη για ενέργεια, με συνέπεια την εμφάνιση κολίτιδας και εν τέλει την εμφάνιση CRC. Τα βακτήρια Firmicutes παράγουν κυρίως βουτυρικό οξύ. Τα Bacteroidetes παράγουν κυρίως προπιονικό και οξικό. Η επεξεργασία κυττάρων CRC LS174T με 1mM βουτυρικού και 1-15mM προπιονικού, προκάλεσαν αύξηση της μεταγραφής του MUC2. Χορήγηση βουτυρικού 140mM από το ορθό, μείωσε την προκαλούμενη από *Citrobacter rodentium* φλεγμονή. Η έκφραση των γονιδίων των TGF-β, IL-10, MUC2, MyD88 αυξήθηκε. Επιπλέον, αύξηση σημειώθηκε και στην έκφραση των γονιδίων των IL-1β, IL-17. Έτσι ευνοήθηκε όχι μόνο η εντερική επισκευή, αλλά και η κάθαρση του παθογόνου.

Χορήγηση DCA σε ποντίκια είχε ως συνέπεια μειωμένη έκφραση της ε-καντερίνης (πεπτιδίο προσκόλλησης). Αυτό ίσως οφείλεται στη μείωση των επιπέδων της προσκολλητίνης FadA που παράγεται από το *Fusobacterium nucleatum*. Η FadA είναι απαραίτητη για τη σύνδεση της ε-καντερίνης με τα επιθηλιακά κύτταρα ώστε να ενεργοποιηθεί η σηματοδότηση Wnt/β-κατενίνη. Ακόμη το DCA αύξησε τα επίπεδα της β-κατενίνης (πεπτιδίο προσκόλλησης). Η μειωμένη αλληλεπίδραση FadA-ε-καντερίνης είναι ευεργετική για την καρκινική εξέλιξη αλλά η υπερέκφραση της β-κατενίνης έχει αντίθετο αποτέλεσμα (18).

Η **ριβοσωμική πρωτεΐνη L4 από το Lactobacillus rhamnosus LRB** ανέστειλε την ανάπτυξη βακτηρίων που παρουσίαζαν αντίσταση στα αντιβιοτικά μακρολίδια. Ωστόσο απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να διευκρινισθεί η εγκυρότητα αυτής της έρευνας (63).

Οι βariatρικές επεμβάσεις μέσω των προκαλούμενων ανακατατάξεων στο σωλήνα του πεπτικού συστήματος και σε συνδυασμό με τη μειωμένη τροφική πρόσληψη, αλλάζουν το προφίλ και την ποσότητα των πρωτογενών χολικών οξέων. Τα **πρωτογενή χολικά οξέα** όταν εισέρχονται στο γαστρεντερικό, υπόκεινται στην επίδραση της εντερικής μικροχλωρίδας με αποτέλεσμα την παραγωγή **δευτερογενών χολικών οξέων**. Ύστερα όμως από μία βariatρική επέμβαση, η μικροχλωρίδα του εντέρου τροποποιείται. Η Roux en y gastrectomy (RYGB) είναι πιο επεμβατική μέθοδος αντιμετώπισης της παχυσαρκίας σε σχέση με τη Sleeve gastrectomy (SG). Για αυτό μετά την εφαρμογή RYGB έχουν παρατηρηθεί οι μεγαλύτερες αλλαγές στη μικροχλωρίδα. Τα οξέα αυτά συμμετέχουν σε μεταβολικά σήματα. Αλλοιώσεις σε αυτά συνεπάγονται αλλοιώσεις στη σηματοδότηση. Οι αλλαγές στην εντεροπατική κυκλοφορία των χολικών οξέων που προκαλούνται από τις RYGB και SG επεμβάσεις, συνδέονται με την απώλεια βάρους, την αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη και τη μείωση της λιπώδους μάζας. Αλλαγές στα δευτερογενή χολικά οξέα επηρεάζουν τα επίπεδα της γλυκόζης, της

HDL-χοληστερόλης. Το a-12 ketolithocholic συσχετίζεται με αλλαγή στο βάρος. Το ουρσοδεοξυχολικό οξύ (UDCA), το ταυροσοδεοξυχολικό οξύ (TUDCA), το γλυκουρσοδεοξυχολικό οξύ (GUDCA), αποτρέπουν τη μείωση του Clostridium cluster XIVa και αυξάνουν το Akkermansia muciniphila. Τα επίπεδα του GUDCA και του UDCA συσχετίζονται ανάλογα με τα επίπεδα του Blautia, ενώ με του Veillonella αντιστρόφως. Αυτό αποδεικνύει την ανασταλτική δράση των χολικών οξέων στην ανάπτυξη του βακτηρίου. Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν τη σημασία των μεταβολιτών αυτών στην αντιμετώπιση μεταβολικών διαταραχών (64).

Οι *Lactobacillus salivarius*, *L.fermentum*, *L.reuteri* διαθέτουν τα γονίδια ribA, ribB, ribG, ribH, που είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση ριβοφλαβίνης, **B2 βιταμίνης**. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να αξιοποιηθεί για τη σύνθεση μεταβιοτικής βιταμίνης (16).

### Παράδειγμα μειωμένης δράσης μεταβιοτικού λόγω πεπτικών συνθηκών

Η αντιοξειδωτική ικανότητα του IC-431 μειώθηκε με έκθεση στην προσομοιωμένη πεπτική διαδικασία. Παρατηρήθηκε ότι οι αντιοξειδωτικές ικανότητες του IC-431 οφείλονται στα κορεσμένα και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, τη γλουταθειόνη (GSH) και την κυστεΐνη (Cys). Τα συγκεκριμένα ασκούν τη δράση τους συνεργιστικά. Τα μεταβολικά υποπροϊόντα των βακτηρίων βιώνουν πολλές φυσικοχημικές και φυσιολογικές διεργασίες που έχουν σημαντικό αντίκτυπο στη δομή και τις ιδιότητες τους. Η GSH και η Cys μπορούν να υποστούν μερική οξείδωση της ομάδας της θειόλης υπό την επίδραση του εντερικού pH. Η GSH μετατρέπεται στο δισουλφίδιο της (GSSG) και υπόκειται σε μερική υδρόλυση, σχηματίζοντας GSH. Αυξημένος λόγος GSSG προς GSH, θεωρείται ένδειξη οξειδωτικού στρες. Η Cys επίσης υπόκειται στη δημιουργία δισουλφιδικού δεσμού και στη μερική υδρόλυση αυτού. Η σουλφυδρυλική ομάδα της Cys είναι πολύ δραστική και συμμετέχει σε ποικίλες ενζυμικές αντιδράσεις ως πυρηνόφιλο αντιδραστήριο. Η ανισορροπία στο λόγο οξειδωμένης-υδρολυμένης μορφής επηρεάζει αρνητικά την αντιοξειδωτική συνάρτηση. Οι μη φορτισμένες μορφές ελεύθερων λιπαρών οξέων έχουν τη δυνατότητα να μετακινούνται μέσω του εσωτερικού τμήματος της μιτοχονδριακής μεμβράνης. Η κίνηση κάθε μορίου λιπαρού οξέος κατά μήκος της μεμβράνης προκαλεί διαρροή ενός πρωτονίου. Η διαρροή πρωτονίων οδηγεί σε εξασθένιση της μιτοχονδριακής αναπνοής. Το IC-431 περιέχει διάφορα ελεύθερα λιπαρά οξέα όπως παλμιτικό, στεατικό και μυριστικό. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα τα οποία μπορούν να δράσουν ως έμμεσα αντιοξειδωτικά, είναι πιο ευαίσθητα στην υπεροξείδωση με τη δράση του pH και των γαστρικών ενζύμων. Επιπλέον, το σάλιο μπορεί να αυξήσει την υπεροξείδωση των λιπαρών οξέων και να προκαλέσει τη σύνδεση σχηματιζόμενων υδροϋπεροξειδίων δημιουργώντας έτσι μεγαλύτερα μόρια και εν τέλει επηρεάζοντας την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Τα παραπάνω εξηγούν τη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του IC-431 μετά την έκθεσή του σε προσαρμοσμένες γαστρεντερικές καταστάσεις. Η δράση των συστατικών του IC-431 εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ικανότητα του πεπτικού συστήματος να τα απελευθερώνει από τη μήτρα τους και να τα μετατρέπει σε απορροφήσιμη μορφή. Τα λιπαρά οξέα βραχείας και

μέσης αλύσου μπορούν να απορροφηθούν άμεσα από το βλεννογόνο του εντέρου. Αντίθετα, η βιοδιαθεσιμότητα της GSH είναι φτωχή λόγω της υδρολυτικής δράσης ενζύμων κατά την κατάποση. Ωστόσο, στο έντερο συμβαίνει μερική επανασύνθεση της GSH. Παρατηρήθηκε ότι στο αίμα τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών μεταβολιτών είναι υψηλότερα από ότι στους ιστούς (30).

### Μεταβιοτικά ως βιοδείκτες

Έχει βρεθεί ότι στη **διαμεσολαβούμενη από IgE τροφική αλλεργία (FA)**, η μικροχλωρίδα του εντέρου και τα συντιθέμενα SCFAs παίζουν ρόλο. Μελετήθηκε η τροφική αλλεργία στο γάλα, τους ξηρούς καρπούς, το φυστίκι, το σουσάμι. Σε μη αλλεργικά άτομα βρέθηκε ότι τα επίπεδα του *Prevotella copri* ήταν υψηλότερα, όπως και τα παραγόμενα από αυτό SCFAs. Η εμφάνιση FA εξαρτάται από την αλληλεπίδραση του εντερικού μικροβιώματος, του εντερικού επιθηλιακού φραγμού και του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ενεργοποίηση της Th2 ανοσίας οδηγεί στην παραγωγή κυτοκινών και IgE αντισωμάτων για τα τροφικά αλλεργιογόνα. Τα SCFAs βουτυρικό, προπιονικό, οξικό, συνδέονται με τον GPR43 υποδοχέα ενεργοποιώντας τον Foxp3 μεταγραφικό παράγοντα των Treg κυττάρων και αυξάνοντας την έκφραση IL-10 από Th1 κύτταρα. Στην τροφική αλλεργία οι σχετιζόμενες με το οξικό άλας λειτουργικές οδοί είναι μειωμένες. Το *P.copri* ανήκει στους κύριους συντελεστές αυτών των οδών. Διαφορά στο μικροβίωμα βρέθηκε όχι μόνο μεταξύ αλλεργικών και μη αλλεργικών ατόμων, αλλά και μεταξύ ατόμων με μία ή πολλαπλή αλλεργία και μεταξύ μεμονωμένων αλλεργιών. Επομένως, κάθε τύπος τροφικής αλλεργίας έχει μοναδική μικροβιακή υπογραφή (8).

Ανάμεσα στους δημιουργούμενους από δυσβίωση **μεταβολίτες της βιταμίνης A** στο αίμα, το παλμιτικό ρετινύλιο, το 13-cis-ρετινικό οξύ, η all-trans-ρετινάλη, σχετίζονται με την πρόκληση PTB. Οι μεταβολίτες της βιταμίνης A, συνδέονται με τους TLRs υποδοχείς ως DAMPs, ασκώντας τη φλεγμονώδη δράση τους, ειδικά όταν βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις. Υψηλές συγκεντρώσεις TMA/TMAO στο 2<sup>ο</sup> τρίμηνο σχετίζονται επίσης με PTB. Αναλύσεις υγρών για αναγνώριση μικροβιακών μεταβολιτών μπορούν να συμβάλλουν στην κατανόηση των μηχανισμών πρόκλησης PTB με τη διαμεσολάβηση μικροοργανισμών (31).

Το TMAO επίσης αποτελεί βιοδείκτη σε ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα (CVD) (50).

Η διαταραγμένη εντερική μικροχλωρίδα διαμεσολαβεί στη διαταραγμένη ωρίμανση των ενδοκρινικών, νευρικών και ανοσολογικών κυττάρων. Στοιχεία μελετών έχουν αποδείξει ότι οι αλλαγές στη σύνθεση της εντερικής χλωρίδας, είναι υπεύθυνες για επιγενετικές αλλαγές που σχετίζονται με τη **σχιζοφρένεια**. Αλλαγές στα επίπεδα των SCFAs οξικού, βουτυρικού, προπιονικού, ισοβαλερικού, εμπλέκονται στη διαταραχή του άξονα εντέρου-εγκεφάλου που σχετίζεται με τη σχιζοφρένεια. Τα SCFAs μεταφέρονται στον εγκέφαλο. Η προκαλούμενη αναστολή της αποακετυλάσης της ιστόνης στα νευρικά εγκεφαλικά κύτταρα, τα καθιστά χρήσιμα εργαλεία στην αντιμετώπιση της κατάθλιψης. Εκτός από τα νευρωνικά κύτταρα του εγκεφάλου αλληλοεπιδρούν και με τα ανοσοποιητικά του κύτταρα, τη μικρογλοία. Σε ασθενείς με σχιζοφρένεια αυξάνεται ο μεταβολισμός της **τροπτοφάνης**. Οι **μεταβολίτες της indole-3-acetic acid (IAA), indole-3-carboxaldehyde (I3A), 3-indolepropionic**

**acid (IPA)**, μπορούν να διατηρούν το κορυφαίο σύμπλεγμα συνδέσμων (AJC) μέσω της ανοδικής ρύθμισης έκφρασης των πρωτεϊνών ακτίνης, εζρίνης και μυοσίνη ΙΙΑ, συμβάλλοντας έτσι στη μείωση της εντερικής διαπερατότητας. Η αλλοίωση στο μεταβολισμό της τρυπτοφάνης έχει ως συνέπεια να εμφανίζεται διαταραγμένη η δομή της λευκής ουσίας (65).

### Συζήτηση

Στην παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση συμπεριλήφθηκαν άρθρα με *in vitro* και *in vivo* έρευνες που έχουν διεξαχθεί τα τελευταία πέντε χρόνια. Όλο και περισσότερες μελέτες τονίζουν το ρόλο της μικροχλωρίδας σε τοπικές και συστηματικές νόσους. Ειδικά το εντερικό μικροβίωμα αλληλοεπιδρά με πολλαπλά συστήματα του οργανισμού. Από τους οργανισμούς της μικροχλωρίδας παράγονται βιοδραστικές ενώσεις. Όταν επικρατεί δυσβίωση, δεν παράγονται οι επιθυμητές ενώσεις ή παράγονται σε δυσανάλογες ποσότητες. Για αυτό το λόγο οι έρευνες έχουν στραφεί στην εξωτερική χορήγηση αυτών των ενώσεων. Η μελέτη των μηχανισμών δράσης αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο για τη διεξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Αν και γενικά τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά, χρειάζονται μελέτες που θα περιλαμβάνουν οπωσδήποτε ανθρώπους, θα είναι μεγαλύτερης κλίμακας με πολλαπλούς πληθυσμούς και θα διαρκούν μεγάλα διαστήματα ώστε να διευκρινισθούν και οι μακροπρόθεσμες συνέπειες. Ακόμη, θα πρέπει να αποσαφηνισθούν τυχόν αλληλεπιδράσεις. Η γνώση της καμύλης δόσης-απόκρισης είναι ιδιαίτερα σημαντική. Εκτός από τις θετικές επιδράσεις κάποιες έρευνες έχουν δείξει ότι η χορήγηση μεταβιοτικών μπορεί να επιβαρύνει την κατάσταση του ασθενούς, ειδικά αν πρόκειται για ιδιαίτερα ευαίσθητους οργανισμούς. Τα παραγόμενα μεταβιοτικά προϊόντα της μικροχλωρίδας μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για τη διάγνωση ασθενειών. Όπως φαίνεται τα μεταβιοτικά μπορούν να αποτελέσουν χρήσιμο εργαλείο στη διαγνωστική και θεραπευτική πράξη.

## Βιβλιογραφία

1. Kwon M, Lee J, Park S, Kwon O-H, Seo J, Roh S. Exopolysaccharide Isolated from *Lactobacillus plantarum* L-14 Has Anti-Inflammatory Effects via the Toll-Like Receptor 4 Pathway in LPS-Induced RAW 264.7 Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 Jan;21(23):9283
2. Moradi M, Molaei R, Guimarães JT. A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. *Enzyme and Microbial Technology*. 2021 Feb 1;143:109722.
3. Vallejo-Cordoba B, Castro-López C, García HS, González-Córdova AF, Hernández-Mendoza A. Chapter One - Postbiotics and paraprobiotics: A review of current evidence and emerging trends. In: da Cruz AG, Prudencio ES, Esmerino EA, da Silva MC, editors. *Advances in Food and Nutrition Research [Internet]*. Academic Press; 2020 [cited 2021 Nov 25]. p. 1–34. (Probiotic and Prebiotics in Foods: Challenges, Innovations and Advances; vol. 94). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043452620300310>
4. Leo A, De Caro C, Mainardi P, Tallarico M, Nesci V, Marascio N, et al. Increased efficacy of combining prebiotic and postbiotic in mouse models relevant to autism and depression. *Neuropharmacology*. 2021 Oct 15;198:108782.
5. Chudzik A, Orzyłowska A, Rola R, Stanisiz GJ. Probiotics, Prebiotics and Postbiotics on Mitigation of Depression Symptoms: Modulation of the Brain–Gut–Microbiome Axis. *Biomolecules*. 2021 Jul;11(7):1000.
6. Turkiewicz J, Jin Ryu H, Mayer EA. Gut microbes and behavior. *Current Opinion in Behavioral Sciences*. 2019 Aug 1;28:72–7.
7. Puccetti M, Gomes dos Reis L, Pariano M, Costantini C, Renga G, Ricci M, et al. Development and in vitro-in vivo performances of an inhalable indole-3-carboxaldehyde dry powder to target pulmonary inflammation and infection. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021 Sep 25;607:121004.
8. Goldberg MR, Mor H, Magid Neriya D, Magzal F, Muller E, Appel MY, et al. Microbial signature in IgE-mediated food allergies. *Genome Med*. 2020 Dec;12(1):92.
9. Li H-Y, Zhou D-D, Gan R-Y, Huang S-Y, Zhao C-N, Shang A, et al. Effects and Mechanisms of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Postbiotics on Metabolic Diseases Targeting Gut Microbiota: A Narrative Review. *Nutrients*. 2021 Sep;13(9):3211.
10. Roberto M, Carconi C, Cerreti M, Schipilliti FM, Botticelli A, Mazzuca F, et al. The Challenge of ICIs Resistance in Solid Tumours: Could Microbiota and Its Diversity Be Our Secret Weapon? *Frontiers in Immunology*. 2021;12:3349.
11. Schertzer JD, Lam TKT. Peripheral and central regulation of insulin by the intestine and microbiome. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2020 Dec 14;320(2):E234–9.
12. Montanari C, Parolisi S, Borghi E, Putignani L, Bassanini G, Zuvadelli J, et al. Dysbiosis, Host Metabolism, and Non-communicable Diseases: Triologue in the Inborn Errors of Metabolism. *Frontiers in Physiology*. 2021;12:1364.

13. Chandhni PR, Pradhan D, Sowmya K, Gupta S, Kadyan S, Choudhary R, et al. Ameliorative Effect of Surface Proteins of Probiotic Lactobacilli in Colitis Mouse Models. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:1973.
14. Kojima K, Naruse Y, Iijima N, Wakabayashi N, Mitsufuji S, Iyata Y, et al. HPA-axis responses during experimental colitis in the rat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2002 Feb 1;282(5):R1348–55.
15. Frankiensztajn LM, Elliott E, Koren O. The microbiota and the hypothalamus-pituitary-adrenocortical (HPA) axis, implications for anxiety and stress disorders. *Current Opinion in Neurobiology*. 2020 Mar 1;62:76–82.
16. Shokoh Parham,<sup>1,\*</sup> Anousheh Zargar Kharazi,<sup>1</sup> Hamid Reza Bakhsheshi-Rad,<sup>2,3,\*</sup> Hadi Nur,<sup>4</sup> Ahmad Fauzi Ismail,<sup>5</sup> Safian Sharif,<sup>3</sup> Seeram RamaKrishna,<sup>6,\*</sup> and Filippo Berto<sup>7,\*</sup> Antibacterial, Antiviral, Antioxidant, and Anticancer Activities of Postbiotics: A review of Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *Biointerface Res Appl Chem*. 2021 Jun 24;12(2):2629–45.
17. Regulation of peptidoglycan synthesis and remodelling | *Nature Reviews Microbiology* [Internet]. [cited 2022 Jan 9]. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41579-020-0366-3>
18. Pothuraju R, Chaudhary S, Rachagani S, Kaur S, Roy HK, Bouvet M, et al. Mucins, gut microbiota, and postbiotics role in colorectal cancer. *Gut Microbes*. 2021 Jan 1;13(1):1974795.
19. Regulation of peptidoglycan synthesis and remodelling | *Nature Reviews Microbiology* [Internet]. [cited 2022 Jan 9]. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41579-020-0366-3>
20. Kim H, Jeon B, Kim WJ, Chung D-K. Effect of paraprobiotic prepared from Kimchi-derived *Lactobacillus plantarum* K8 on skin moisturizing activity in human keratinocyte. *Journal of Functional Foods*. 2020 Dec 1;75:104244
21. Anhê FF, Jensen BAH, Perazza LR, Tchernof A, Schertzer JD, Marette A. Bacterial Postbiotics as Promising Tools to Mitigate Cardiometabolic Diseases. *J Lipid Atheroscler*. 2021 May;10(2):123–9.
22. Postbiotics for NOD2 require nonhematopoietic RIPK2 to improve blood glucose and metabolic inflammation in mice | *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* [Internet]. [cited 2022 Jan 10]. Available from: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpendo.00033.2020>
23. Mantziari A, Salminen S, Szajewska H, Malagón-Rojas JN. Postbiotics against Pathogens Commonly Involved in Pediatric Infectious Diseases. *Microorganisms*. 2020 Sep 30;8(10):1510
24. Teame T, Wang A, Xie M, Zhang Z, Yang Y, Ding Q, et al. Paraprobiotics and Postbiotics of Probiotic Lactobacilli, Their Positive Effects on the Host and Action Mechanisms: A Review. *Front Nutr* [Internet]. 2020 [cited 2021 Feb 26];7. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2020.570344/full>
25. Nataraj BH, Ramesh C, Mallappa RH. Characterization of biosurfactants derived from probiotic lactic acid bacteria against methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* isolates. *LWT*. 2021 Nov 1;151:112195.

26. Woith E, Fuhrmann G, Melzig MF. Extracellular Vesicles—Connecting Kingdoms. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019 Jan;20(22):5695.
27. Vandenas Y, de Halleux V, Arciszewska M, Lach P, Pokhylko V, Klymenko V, et al. A Partly Fermented Infant Formula with Postbiotics Including 3'-GL, Specific Oligosaccharides, 2'-FL, and Milk Fat Supports Adequate Growth, Is Safe and Well-Tolerated in Healthy Term Infants: A Double-Blind, Randomised, Controlled, Multi-Country Trial. *Nutrients*. 2020 Nov;12(11):3560.
28. Banfi D, Moro E, Bosi A, Bistoletti M, Cerantola S, Crema F, et al. Impact of Microbial Metabolites on Microbiota–Gut–Brain Axis in Inflammatory Bowel Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Jan;22(4):1623.
29. Hossain MdI, Mizan MdFR, Roy PK, Nahar S, Toushik SH, Ashrafudoulla Md, et al. *Listeria monocytogenes* biofilm inhibition on food contact surfaces by application of postbiotics from *Lactobacillus curvatus* B.67 and *Lactobacillus plantarum* M.2. *Food Research International*. 2021 Oct 1;148:110595.
30. Moradi M, Molaei R, Guimarães JT. A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. *Enzyme and Microbial Technology*. 2021 Feb 1;143:109722.
31. Ansari A, Bose S, You Y, Park S, Kim Y. Molecular Mechanism of Microbiota Metabolites in Preterm Birth: Pathological and Therapeutic Insights. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Jan;22(15):8145.
32. Wegh CAM, Geerlings SY, Knol J, Roeselers G, Belzer C. Postbiotics and Their Potential Applications in Early Life Nutrition and Beyond. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019 Jan;20(19):4673.
33. Rad AH, Maleki LA, Kafil HS, Zavoshti HF, Abbasi A. Postbiotics as Promising Tools for Cancer Adjuvant Therapy. *Adv Pharm Bull*. 2020 Nov 7;11(1):1–5.
34. Batista VL, da Silva TF, de Jesus LCL, Coelho-Rocha ND, Barroso FAL, Tavares LM, et al. Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Paraprobiotics as a Therapeutic Alternative for Intestinal Mucositis. *Front Microbiol* [Internet]. 2020 [cited 2021 Mar 28];11. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.544490/full>
35. Todorov SD, Tagg JR, Ivanova IV. Could Probiotics and Postbiotics Function as “Silver Bullet” in the Post-COVID-19 Era? *Probiotics & Antimicro Prot*. 2021 Dec 1;13(6):1499–507
36. Huang F-C, Huang S-C. The Combined Beneficial Effects of Postbiotic Butyrate on Active Vitamin D3-Orchestrated Innate Immunity to Salmonella Colitis. *Biomedicines*. 2021 Oct;9(10):1296.
37. Kumar H, Collado MC, Wopereis H, Salminen S, Knol J, Roeselers G. The Bifidogenic Effect Revisited—Ecology and Health Perspectives of Bifidobacterial Colonization in Early Life. *Microorganisms*. 2020 Dec;8(12):1855.

38. Castellani C, Obermüller B, Kienesberger B, Singer G, Peterbauer C, Grabherr R, et al. Production, Storage Stability, and Susceptibility Testing of Reuterin and Its Impact on the Murine Fecal Microbiome and Volatile Organic Compound Profile. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:2045.
39. Jung J-I, Baek S-M, Nguyen TH, Kim JW, Kang C-H, Kim S, et al. Effects of Probiotic Culture Supernatant on Cariogenic Biofilm Formation and RANKL-Induced Osteoclastogenesis in RAW 264.7 Macrophages. *Molecules*. 2021 Jan;26(3):733
40. Vale GC, Mayer MPA. Effect of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* by-products on gingival epithelial cells challenged with *Porphyromonas gingivalis*. *Archives of Oral Biology*. 2021 Aug 1;128:105174.
41. Nataraj BH, Ramesh C, Mallappa RH. Characterization of biosurfactants derived from probiotic lactic acid bacteria against methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* isolates. *LWT*. 2021 Nov 1;151:112195
42. Gao J, Li Y, Wan Y, Hu T, Liu L, Yang S, et al. A Novel Postbiotic From *Lactobacillus rhamnosus* GG With a Beneficial Effect on Intestinal Barrier Function. *Front Microbiol* [Internet]. 2019 [cited 2021 Feb 22];10. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00477/full>
43. Li H, Abraham A, Gazzola D, Hu Y, Beamer G, Flanagan K, et al. Recombinant Paraprobiotics as a New Paradigm for Treating Gastrointestinal Nematode Parasites of Humans. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020 Dec 14;65(3):e01469-20, /aac/65/3/AAC.01469-20.atom
44. Maidana LG, Gerez J, Hohmann MNS, Verri WA, Bracarense APFL. *Lactobacillus plantarum* metabolites reduce deoxynivalenol toxicity on jejunal explants of piglets. *Toxicon*. 2021 Nov 1;203:12–21.
45. Rather IA, Choi S-B, Kamli MR, Hakeem KR, Sabir JSM, Park Y-H, et al. Potential Adjuvant Therapeutic Effect of *Lactobacillus plantarum* Probio-88 Postbiotics against SARS-COV-2. *Vaccines*. 2021 Oct;9(10):1067.
46. Salva S, Tiscornia I, Gutiérrez F, Alvarez S, Bollati-Fogolin M. *Lactobacillus rhamnosus* postbiotic-induced immunomodulation as safer alternative to the use of live bacteria. *Cytokine*. 2021 Oct 1;146:155631.
47. Salva S, Kolling Y, Ivir M, Gutiérrez F, Alvarez S. The Role of Immunobiotics and Postbiotics in the Recovery of Immune Cell Populations From Respiratory Mucosa of Malnourished Hosts: Effect on the Resistance Against Respiratory Infections. *Frontiers in Nutrition*. 2021;8:528.
48. Seo K-H, Jeong J, Kim H. Synergistic Effects of Heat-Killed Kefir Paraprobiotics and Flavonoid-Rich Prebiotics on Western Diet-Induced Obesity. *Nutrients*. 2020 Aug;12(8):2465.
49. de Almada CN, Almada CN, Martinez RCR, Sant'Ana AS. Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends in Food Science & Technology*. 2016 Dec 1;58:96–114.



50. Anhê FF, Jensen BAH, Perazza LR, Tcherno A, Schertzer JD, Murette A. Bacterial Postbiotics as Promising Tools to Mitigate Cardiometabolic Diseases. *Journal of Lipid and Atherosclerosis*. 2021 May 1;10(2):123–9.
51. Hsu C-N, Hou C-Y, Hsu W-H, Tain Y-L. Cardiovascular Diseases of Developmental Origins: Preventive Aspects of Gut Microbiota-Targeted Therapy. *Nutrients*. 2021 Jul;13(7):2290.
52. El-Sayed A, Aleya L, Kamel M. Microbiota and epigenetics: promising therapeutic approaches? *Environ Sci Pollut Res*. 2021 Sep 1;28(36):49343–61.
53. Cabello-Olmo M, Araña M, Urtasun R, Encio IJ, Barajas M. Role of Postbiotics in Diabetes Mellitus: Current Knowledge and Future Perspectives. *Foods*. 2021 Jul;10(7):1590..
54. Barros CP, Grom LC, Guimarães JT, Balthazar CF, Rocha RS, Silva R, et al. Paraprobiotic obtained by ohmic heating added in whey-grape juice drink is effective to control postprandial glycemia in healthy adults. *Food Research International*. 2021 Feb 1;140:109905.
55. Teame T, Wang A, Xie M, Zhang Z, Yang Y, Ding Q, et al. Paraprobiotics and Postbiotics of Probiotic Lactobacilli, Their Positive Effects on the Host and Action Mechanisms: A Review. *Front Nutr* [Internet]. 2020 [cited 2021 Mar 28];7.
56. Reynés B, Palou M, Rodríguez AM, Palou A. Regulation of Adaptive Thermogenesis and Browning by Prebiotics and Postbiotics. *Front Physiol* [Internet]. 2019 [cited 2021 Feb 23];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.01908/full>
57. Montazeri-Najafabady N, Ghasemi Y, Dabbaghmanesh MH, Ashoori Y, Talezadeh P, Koohepyma F, et al. Exploring the bone sparing effects of postbiotics in the post-menopausal rat model. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2021 May 28;21(1):155.
58. Callewaert C, Knödlseeder N, Karoglan A, Güell M, Paetzold B. Skin microbiome transplantation and manipulation: Current state of the art. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2021 Jan 1;19:624–31.
59. Kim H, Jeon B, Kim WJ, Chung D-K. Effect of paraprobiotic prepared from Kimchi-derived *Lactobacillus plantarum* K8 on skin moisturizing activity in human keratinocyte. *Journal of Functional Foods*. 2020 Dec 1;75:104244.
60. Nam Y, Kim J, Baek J, Kim W. Improvement of Cutaneous Wound Healing via Topical Application of Heat-Killed *Lactococcus chungangensis* CAU 1447 on Diabetic Mice. *Nutrients*. 2021 Aug;13(8):2666.
61. Majeed M, Majeed S, Nagabhushanam K, Mundkur L, Rajalakshmi HR, Shah K, et al. Novel Topical Application of a Postbiotic, LactoSporin®, in Mild to Moderate Acne: A Randomized, Comparative Clinical Study to Evaluate its Efficacy, Tolerability and Safety. *Cosmetics*. 2020 Sep;7(3):70.
62. Majeed M, Majeed S, Nagabhushanam K, Lawrence L, Arumugam S, Mundkur L. Skin Protective Activity of LactoSporin-the Extracellular Metabolite from *Bacillus Coagulans* MTCC 5856. *Cosmetics*. 2020 Dec;7(4):76

63. Ribosomal protein L4 of *Lactobacillus rhamnosus* LRB alters resistance to macrolides and other antibiotics - PubMed [Internet]. [cited 2022 Jan 7]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32022979/>
64. Ocaña-Wilhelmi L, Martín-Núñez GM, Ruiz-Limón P, Alcaide J, García-Fuentes E, Gutiérrez-Repiso C, et al. Gut Microbiota Metabolism of Bile Acids Could Contribute to the Bariatric Surgery Improvements in Extreme Obesity. *Metabolites*. 2021 Nov;11(11):733.
65. Munawar N, Ahsan K, Muhammad K, Ahmad A, Anwar MA, Shah I, et al. Hidden Role of Gut Microbiome Dysbiosis in Schizophrenia: Antipsychotics or Psychobiotics as Therapeutics? *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Jan;22(14):7671.

## **Παράρτημα**

### **Συντομογραφίες**

MUC-2: βλεννίνης-2

CRC: καρκίνος του παχέος εντέρου

PRRs: υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων

PAMPs: μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με παθογόνα

TNF: παράγοντας νέκρωσης όγκου

TGF: παράγοντας μετασχηματισμού ανάπτυξης

DCs: δενδριτικά κύτταρα

TLR: υποδοχείς τύπου Toll

PGN: πεπτιδογλυκάνη

LTA: λιποτεϊχοϊκό οξύ

LPS: λιποπολυσακχαρίτες

NF-κB: πυρηνικός παράγοντας κάπα-ενισχυτή της ελαφριάς αλυσίδας της ενεργοποιημένης οδού των κυττάρων B

DAMPs: μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με βλάβη

SCFAs: λιπαρά οξέα βραχείας αλυσού

MyD88: μυελοειδή παράγοντα διαφοροποίησης

TRIF: προσαρμογέας που περιέχει περιοχή που επάγει την ιντερφερόνη

MAPK: ενεργοποιημένη με μιτογόνο πρωτεϊνική κινάση

IRF: ρυθμιστικός παράγοντας ιντερφερόνης

ENS: εντερικό νευρικό σύστημα

ANS: αυτόνομο νευρικό σύστημα

CNS: κεντρικό νευρικό σύστημα

IBD: φλεγμονώδεις νόσου του εντέρου

HPA: άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια

CRF: παράγοντας απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης

ACTH: αδρενοκορτικοτροπική ορμόνη

BDNF: νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από τον εγκέφαλο

IBS: σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου

ZO-1: zonula occludens-1

HDACs: αποακετυλάσες ιστόνης

FFAR: υποδοχείς ελεύθερου λιπαρού οξέος

FXR: πυρηνικός υποδοχέας φαρνεσοειδούς

iNOS: συνθάσης νιτρικού οξειδίου

TRP: τρυπτοφάνη

5-HT: σεροτονίνη

KYN: κινουρενίνη  
QA: κινολινικό οξύ  
KynA: κινουρενικό οξύ  
NOS: νιτρικό οξειδωτικό στρες  
ROS: αντιδραστικά είδη οξυγόνου  
AhR: υποδοχέας αρυλ-υδρογονάνθρακα  
AMPs: αντιμικροβιακά πεπτιδία  
LAB: βακτηρία γαλακτικού οξέος  
NOD: πρωτεΐνες που ενέχουν την περιοχή ολιγομερισμού που δεσμεύει νουκλεοτίδια  
MDP: μουραμυλοδιπεπτίδιο  
TA: τείχοϊκό οξύ  
EVs: εξωκυτταρικά κυστίδια  
EPS: εξωπολυσακχαρίτες  
BS: βιοεπιφανειοδραστικά  
APF: πρωτεΐνες παράγοντα προαγωγής συσσωμάτωσης  
SrtA: σορτάση A  
BBB: αιματοεγκεφαλικός φραγμός  
PYY: πεπτίδιο τυροσίνη τυροσίνη  
GLP-1: πεπτίδιο 1 τύπου γλυκαγόνης  
5-HT: σεροτονίνη  
CD: νόσος του Crohn  
UC: ελκώδη κολίτιδα  
NLR: υποδοχείς που μοιάζουν με την περιοχή ολιγομερισμού που δεσμεύουν νουκλεοτίδια  
IBS: σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου  
JNK: N-τερματική κινάση c-Jun  
ERK: εξωκυτταρική κινάση ρυθμιζόμενη από σήμα  
MDA: μηλονυλοδιαλδεύδη  
PTB: πρόωρος τοκετός  
IC-431: ενδοκυτταρικό κλάσμα προερχόμενο από *Lactobacillus casei* CRL431  
5-FU: 5-φθοροουρακίλη  
allo-HSCT: αλλογενής μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων  
GVHD: οξεία νόσος μοσχεύματος έναντι ξενιστή  
MAMPs: μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με τα μικρόβια  
APCs: αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα  
IEC: εντερικά επιθηλιακά κύτταρα  
TUDCA: ταυρο-ουρσο-δεοξυχολικού οξύ  
VDR: υποδοχέας της βιταμίνης D

MMP-9: μήτρα μεταλλοπρωτεΐνάσης-9  
3-IA1d: ινδολο-3-καρβοξυ-αλδεΐδη  
DON: δεοξυνιβαλενόλη  
HF: δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά  
TMAO: N-οξειδίο της τριμεθυλαμίνης  
BAT: φαιός λιπώδης ιστός  
WAT: λευκός λιπώδης ιστός  
UCP-1: μιτοχονδριακή πρωτεΐνη φορέας  
CDCA: χηνοδεοξυχολικό οξύ  
CA: χολικό οξύ  
LCA: λιθοχολικό οξύ  
DCA: δεοξυχολικό οξύ  
GSH: γλουταθειόνη  
Cys: κυστεΐνη



