

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

«ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΙ
ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑΤΟΣ ΣΕ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ »

ΝΙΚΟΛΙΝΑ-ΑΛΕΞΙΑ ΦΑΣΟΥΛΑ ΙΑΤΡΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τσέζου Α. (**Επιβλέπουσα**) :Καθηγήτρια Γενετικής Παν/μιου Θεσσαλίας

Κυριάκου Δ. (**Μέλος**) :Καθηγήτρια Ιατρικής των Μεταγγίσεων Παν/μιου Θεσσαλίας

Δήμας Κ. (**Μέλος**) :Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακολογίας Παν/μιου
Θεσσαλίας

Λάρισα,2017

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

«HOST GENETICS, GUT MICROBIOME & METABOLIC DISEASES»

ΝΙΚΟΛΙΝΑ-ΑΛΕΞΙΑ ΦΑΣΟΥΛΑ ΙΑΤΡΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τσέζου Α. (**Επιβλέπουσα**) :Καθηγήτρια Γενετικής Παν/μιου Θεσσαλίας

Κυριάκου Δ. (**Μέλος**) :Καθηγήτρια Ιατρικής των Μεταγγίσεων Παν/μιου Θεσσαλίας

Δήμας Κ. (**Μέλος**) :Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακολογίας Παν/μιου
Θεσσαλίας

Περιεχόμενα:

Ευχαριστίες

Περίληψη

Abstract

1.ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Εισαγωγή

1.2 Ορισμός και σύνθεση του Εντερικού Μικροβιόκοσμου

1.3.Οι κύριες λειτουργίες του Εντερικού Μικροβιόκοσμου

1.4. Παράγοντες που επηρεάζουν τον Εντερικό Μικροβιόκοσμο

1.4.1. *Ενδομήτρια περίοδος και τρόπος τοκετού (φυσιολογικός ή καισαρική)*

1.4.2. *Κληρονομικότητα*

1.4.3. *Η διαίτα κατά το πρώτο διάστημα της ζωής του*

1.4.4. *Η σύσταση της διαίτας στην ενήλικη ζωή*

1.4.5.*Η κατανάλωση αντιβιοτικών*

1.4.6.*Ο τρόπος ζωής και η φυσική δραστηριότητα*

1.4.7. *Η γεωγραφική θέση*

1.4.8. *Η κατανάλωση προ- ή πρε- βιοτικών*

1.4.9. *Παχυσαρκία*

1.5. Συμβίωση, δυσβίωση και ανοσοποιητικό σύστημα–Επιπτώσεις

1.6. Εξοικονόμηση ενέργειας που επηρεάζεται από το εντερικό μικροβίωμα

1.7. Ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στην παθογένεση της παχυσαρκίας και στην αντίσταση στην ινσουλίνη

1.8. Συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με το μεταβολισμό των λιπιδίων

2.ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Εντερικό μικροβίωμα και μεταβολικά νοσήματα

2.2. Εντερικό μικροβίωμα και μεταβολικό σύνδρομο

2.2.1.*Περιορισμένη αποτελεσματικότητα των παγκόσμιων διαιτητικών συστάσεων στο μεταβολικό σύνδρομο*

2.2.2.*Το μικροβίωμα στο MetS*

- 2.2.3.Μεταβολικές συνέπειες των παραλλαγών μεταξύ των ατόμων στο μικροβίωμα
- 2.2.4.Μηχανισμοί που εμπλέκονται στις επιδράσεις του εντερικού μικροβιώματος στο MetS
- 2.2.5.Μεταβολίτες που προέρχονται από μικροβίωμα
 - 2.2.5.1. Λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας
 - 2.2.5.2. Χολικά οξέα
 - 2.2.5.3.Τριμεθυλαμίνες
- 2.3.Μικροβιοτική ρύθμιση της φλεγμονής
- 2.4.Εντερικό μικροβίωμα και αθηροσκλήρωση
- 2.5.Εντερικό μικροβίωμα και σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 (ΣΔ 1)
- 2.6.Εντερικό μικροβίωμα και σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ 2)
 - 2.6.1.Η θέση της τροποποίησης του εντερικού μικροβιώματος στη θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη
- 2.7. Εντερικό μικροβίωμα και παχυσαρκία
 - 2.7.1.Παχυσαρκία, μικροχλωρίδα και επιθηλιακή ακεραιότητα
- 2.8.Εντερικό μικροβίωμα και η μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδης ηπατική νόσος (NAFLD)
- 2.9. Γενετικοί παράγοντες
- 3.Μελλοντικές προοπτικές: από το προσωπικό μικροβίωμα στις εξατομικευμένες θεραπείες
 - 3.1.Διατροφικές παρεμβάσεις
 - 3.2.Μεταμόσχευση μικροβιώματος μέσω κοπράνων (FMT)
 - 3.3.Προβιοτική και πρεβιοτική διαμόρφωση στις μεταβολικές παθήσεις
- 4.Συμπεράσματα
- 5.Βιβλιογραφία

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου κ.Τσέζου Ασπασία (**Επιβλέπουσα**), Καθηγήτρια Γενετικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τη καθοδήγηση και την ενθάρρυνση που μου προσέφερε όλο αυτό το διάστημα. Οι συμβουλές και οι γνώσεις της ήταν αρωγοί στη διεκπεραίωση της εργασίας ,καθώς και την κ. Κυριάκου Δ. Καθηγήτρια Ιατρικής των Μεταγγίσεων Πανεπιστημίου Θεσσαλίας αλλά και τον κ. Δήμα Κ. Επίκουρο Καθηγητή Φαρμακολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την ευκαιρία που μου δόθηκε να ασχοληθώ και να ολοκληρώσω ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα.Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του μεταπτυχιακού προγράμματος – Γενετικής του Ανθρώπου, για τις γνώσεις που μας μετέδωσαν, τις ενδιαφέρουσες συζητήσεις και τους προβληματισμούς που προέκυψαν στα πλαίσια του μαθήματος και το ενδιαφέρον που ενέπνευσαν για περαιτέρω έρευνα και μάθηση. Τέλος νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τα άλλα αγαπημένα μου πρόσωπα για την αμέριστη υποστήριξη τους.

Περίληψη

Υπολογίζεται ότι περισσότερα από 1000 μικροβιακά είδη αποικίζουν το έντερο του ανθρώπου. Η εντερική μικροχλωρίδα αποτελεί ένα δυναμικό σύστημα που αλληλεπιδρά με τα διαιτητικά, γενετικά και περιβαλλοντικά χαρακτηριστικά του ξενιστή και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση του οργανισμού ρυθμίζοντας, μεταξύ άλλων, την ανοσιακή απόκριση και τον μεταβολισμό του οργανισμού. Την τελευταία δεκαετία, αναδείχθηκε ιδιαίτερα ο ρόλος της εντερικής μικροχλωρίδας στην ανάπτυξη μεταβολικών νοσημάτων, όπως η παχυσαρκία και ο διαβήτης τύπου II, που φαίνεται να συνδέονται με τη δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος και τη φλεγμονή. Ωστόσο, οι μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους η εντερική μικροχλωρίδα επηρεάζει τον μεταβολισμό του ξενιστή, τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές συνθήκες εξακολουθούν να είναι ασαφείς. Στην παρούσα μελέτη, παραθέτουμε μια αναλυτική περιγραφή του εντερικής μικροχλωρίδας του ανθρώπου και των παραγόντων που την επηρεάζουν ενώ συζητάμε τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λειτουργιών της εντερικής μικροχλωρίδας, του γενετικού προφίλ του ξενιστή και την παθοφυσιολογία των κύριων μεταβολικών παθήσεων.

Abstract

It is estimated that more than 1000 microbial species colonize the human intestine. The gut microbiota constitutes a dynamic system interacting with the dietary, genetic, and environmental characteristics of the host while playing a significant role for body homeostasis via the regulation of immunity and metabolism among others. Over the last decade, was highlighted the role of gut microbiota in the development of several metabolic diseases, such as obesity and diabetes mellitus type II which are associated with the dysbiosis of gut microbiota and the inflammation. Nevertheless, the molecular mechanisms underlying the influence of gut microbiota on host's metabolism, in health and disease, remain unclear. Herein, we provide a comprehensive description of the human gut microbiota as well as of the factors affecting it while discussing the links among the functions of the gut microbiota, the genetic profile of the host and the pathophysiology of the main metabolic diseases.

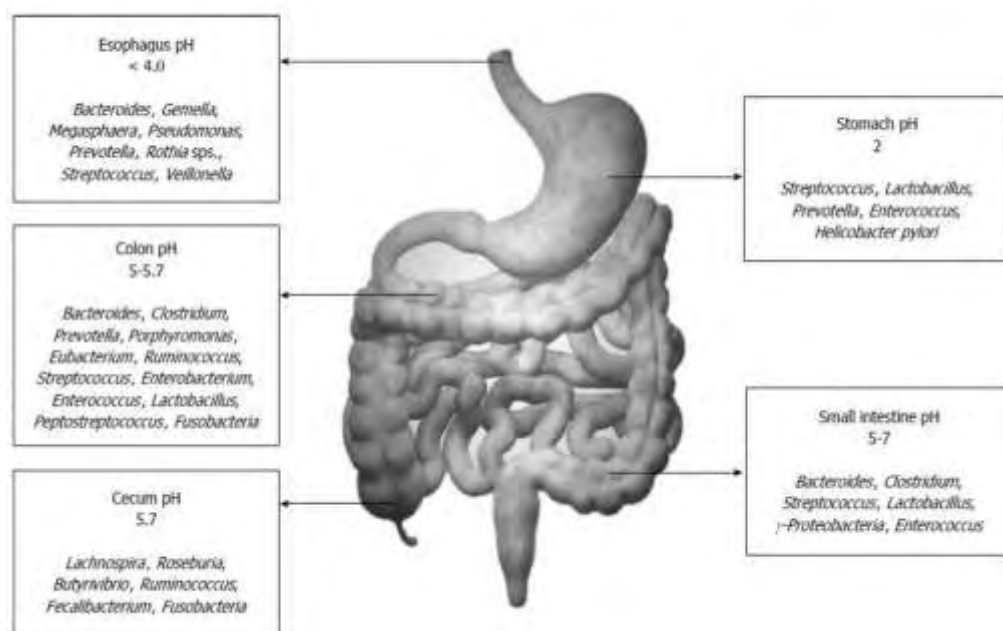
1.1.Εισαγωγή

Το έντερο του ανθρώπου αποτελεί το φυσικό περιβάλλον ενός δυναμικού, πολύπλοκου και ποικίλου μικροβιακού οικοσυστήματος [1] που καθορίζεται μέσω μιας διαδικασίας ανταγωνισμού και φυσικής επιλογής [2]. Οι εντερικοί μικροοργανισμοί εμπλέκονται σε ποικίλους μηχανισμούς του μεταβολισμού αλληλεπιδρούν με το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου [4]. Μεταβάλλουν τα θρεπτικά συστατικά που καταλήγουν άπεπτα στον εντερικό σωλήνα και βρίσκονται σε επαφή με τα κύτταρα του ξενιστή [5]. Ωστόσο, διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης του ξενιστή, επηρεάζοντας ακόμα και το σωματικό βάρος του. Η ομοιόσταση επηρεάζεται τόσο από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όσο και από το γενετικό υπόβαθρο του ξενιστή [4]. Ο «εντερικός μικροβιόκοσμος» προτείνεται από αρκετούς ερευνητές ότι λειτουργεί ως ένα μεταβολικό και ανεξάρτητο όργανο, καθώς τα μέλη του δεν είναι απλά «παθητικοί» κάτοικοι, αλλά πραγματοποιούν μια σειρά από βιολογικές λειτουργίες που είναι σημαντικές για την διατροφή και την ευημερία του ανθρώπου [6]. Ο ξενιστής παρέχει στους μικροοργανισμούς το περιβάλλον και τα θρεπτικά συστατικά ενώ ταυτόχρονα αντλεί πολλά οφέλη καθώς η συνεισφορά τους σε μεταβολικές, ανοσολογικές και σε τροφικές λειτουργίες είναι τεράστια. [1]

1.2. Εντερικό μικροβίωμα: Ορισμός και σύνθεση

Ένα υγιές άτομο αποικίζεται από τρισεκατομμύρια μικρόβια [7]. Το εντερικό μικροβίωμα αφορά στο σύνολο των γονιδίων των μικροβίων της εντερικής μικροχλωρίδας ενός ατόμου.

Η στοματική κοιλότητα περιέχει υψηλό αριθμό βακτηρίων (10^{12}). Ο στόμαχος φέρει περίπου 10^3 – 10^4 βακτήρια, το δωδεκαδάκτυλο 10^5 – 10^6 και ο τελικός ειλεός 10^8 – 10^9 βακτήρια (ανά γραμμάριο ιστού ή κοπράνων). Ωστόσο, ο μεγαλύτερος αριθμός βακτηριακών κυττάρων έχει βρεθεί στο παχύ έντερο (10^{12} βακτήρια ανά γραμμάριο εντερικού ιστού). Το παχύ έντερο είναι το τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα, στο οποίο αναπτύσσεται από την στιγμή της γέννησης του ατόμου ένα σύνθετο σύνολο από μικροοργανισμούς (Εικόνα 1.1) Το ανθρώπινο μικροβίωμα του παχέος εντέρου είναι πυκνότερο και περισσότερο πολυποίκιλο σε σχέση με το ανθρώπινο μικροβίωμα του λεπτού εντέρου. Τα δείγματα από το λεπτό έντερο είναι εμπλουτισμένα στα φύλα Firmicutes και Actinobacteria, ενώ τα Bacteroidetes και τα Lachnospiracae των Firmicutes είναι περισσότερα σε δείγματα από το κόλον. Υπολογίζεται ότι περίπου 70% των μικροβιακών αυτών κοινοτήτων αποτελείται από βακτήρια που δεν μπορούν να καλλιεργηθούν με τις συνήθεις μικροβιολογικές τεχνικές.



Εικόνα 1.1: Κατανομή των βακτηρίων κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα [8] .

Αν και η πλειονότητα των μικροοργανισμών στον εντερικό μικροβίοκοσμο είναι βακτηριακής προέλευσης, περιλαμβάνονται επίσης και μύκητες, ζύμες, ιοί, αρχαία και πρωτόζωα. Οι διαφορές στα είδη που απαντώνται σε διαφορετικές θέσεις στην παρουσία των μικροοργανισμών κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα είναι αρκετές. Τα δεδομένα, όμως, σχετικά με τους μύκητες και τις ζύμες είναι ελάχιστα. Στα βακτήρια παρατηρείται σημαντική διαφορά στην ποικιλομορφία και στον αριθμό τους που κυμαίνονται από 10^1 κύτταρα ανά γραμμάριο του περιεχομένου ή του ιστού στον στόμαχο και φτάνουν έως και 10^{12} , στο κόλον (Εικόνα 1.2). Σημειώτέον ότι οι αριθμοί αυτοί είναι περίπου δεκαπλάσιοι του αριθμού των ευκαρυωτικών κυττάρων του ανθρώπινου σώματος [8].



Εικόνα 1.2: Μεταβολές στη σύνθεση και στον αριθμό του εντερικού μικροβιόκοσμου κατά μήκος της γαστρεντερικής οδού [9]

Έχει παρατηρηθεί ότι οι μικροβιακοί πληθυσμοί του εντερικού βλεννογόνου διαφέρουν από εκείνους που απαντώνται στον εντερικό αυλό. Εκτιμάται ότι το παχύ έντερο φιλοξενεί περισσότερα από 10^{14} μικροβιακά κύτταρα[1] που ποικίλουν σε είδος από άτομο σε άτομο και οργανώνονται σε εντοπισμένες μικροβιακές κοινότητες. Οι τελευταίες φαίνεται πως δεν ακολουθούν σταθερά τοπολογικά μοτίβα κατά μήκος του εντέρου καθώς επηρεάζονται από την τοπική συγκέντρωση οξυγόνου. Έτσι, οι κοινότητες των προαιρετικά αερόβιων μικροοργανισμών κατοικούν κοντά στα τοιχώματα του εντέρου, που είναι σημεία υψηλής συγκέντρωσης οξυγόνου, και οι αναερόβιοι προτιμούν τον αυλό του εντέρου, όπου η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι χαμηλότερη. [10]

Αν και υπάρχει μεγάλη ποικιλία στα μικρόβια που αποικίζουν το έντερο, έχει βρεθεί ότι η εντερική μικροχλωρίδα των περισσότερων ατόμων μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε μία από τις τρεις ομάδες ή «εντερότυπους» ανάλογα με την επικράτηση των γενών: *Bacteroides* (εντερότυπος 1), *Prevotella* (εντερότυπος 2) ή *Ruminococcus* (εντερότυπος 3). Νεότερα δεδομένα όμως

δείχνουν ότι ο χωρισμός στους τρεις εντερότυπους αποτελεί απλούστευση και ότι στο έντερο υπάρχουν πολλές ενδιάμεσες καταστάσεις. Η επικράτηση του κάθε εντερότυπου καθορίζεται κυρίως από διαιτητικούς παράγοντες. Φαίνεται όμως ότι το κάθε άτομο διαθέτει σταθερά στελέχη βακτηρίων, αν και η σύνθεση μπορεί να μεταβάλλεται.

Εκτιμάται ότι 400–500 περίπου διαφορετικά γένη μικροοργανισμών αποτελούν τον εντερικό μικροβιόκοσμο [9], ενώ τα είδη των βακτηρίων ανέρχονται από 1000 έως και 1150 σε κάθε άτομο και το 90% αυτών είναι κυρίως αναερόβια [1]. Τα περισσότερα από αυτά ανήκουν σε δύο Φύλα τα Bacteroidetes και τα Firmicutes [8]. Οι υπόλοιποι πληθυσμοί των βακτηρίων ανήκουν στα Proteobacteria, στα Actinobacteria, στα Fusobacteria και στα Verrucomicrobia [6] (Εικόνα 1.3)

Συνομοταξία ή φylum	Ομοταξία ή κλάση	Τάξη	Οικογένεια	Γένος
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	Rickettsia
		Rhizobiales	Brucellaceae	Brucella
	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	Neisseria
		Burkholderiales	Alcaligenaceae	Bordetella
	Gammaproteobacteria	Legionellales	Coxiellaceae	Coxiella
			Legionellaceae	Legionella
		Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas
		Vibrionales	Vibrionaceae	Vibrio
		Aeromonadales	Aeromonaceae	Aeromonas
		Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter
				Escherichia
	Salmonella			
	Pasteurellales	Pasteurellaceae	Aggregatibacterium Haemophilus Pasteurella	
	Epsilonproteobacteria	Campylobacteriales	Campylobacteraceae	Campylobacter
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium
			Lachnospiraceae	Lachnospira
			Ruminococcaceae	Faecalibacterium Ruminococcus
	Bacilli	Bacillales	Staphylococcaceae Bacillaceae	Staphylococcus
				Bacillus
		Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus Pedococcus
			Enterococcaceae	Enterococcus
			Streptococcaceae	Streptococcus Lactococcus

Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Campylobacter
			Mycobacteriaceae	Mycobacterium
			Micrococaceae	Microbacterium
		Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium
Fusobacteria	Fusobacteria	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae	Fusobacterium
			Leptotrichiaceae	Streptobacillus
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides
			Porphyromonadaceae	Porphyromonas
			Prevotellaceae	Prevotella
	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium
Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Verrucomicrobium

Εικόνα 1.3: Ταξινόμηση των βακτηρίων που αποικίζουν τον εντερικό σωλήνα του ανθρώπου [9]

1.3. Οι κύριες Λειτουργίες του Εντερικού Μικροβιόκοσμου

Μια από τις κύριες λειτουργίες του εντερικού μικροβιόκοσμου είναι να προστατεύει το έντερο από τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Επιπλέον συμβάλλει στην ανάπτυξη ενός υγιούς ανοσοποιητικού συστήματος, ρυθμίζει την κινητικότητα του εντέρου και συμμετέχει στο μεταβολισμό.[11]

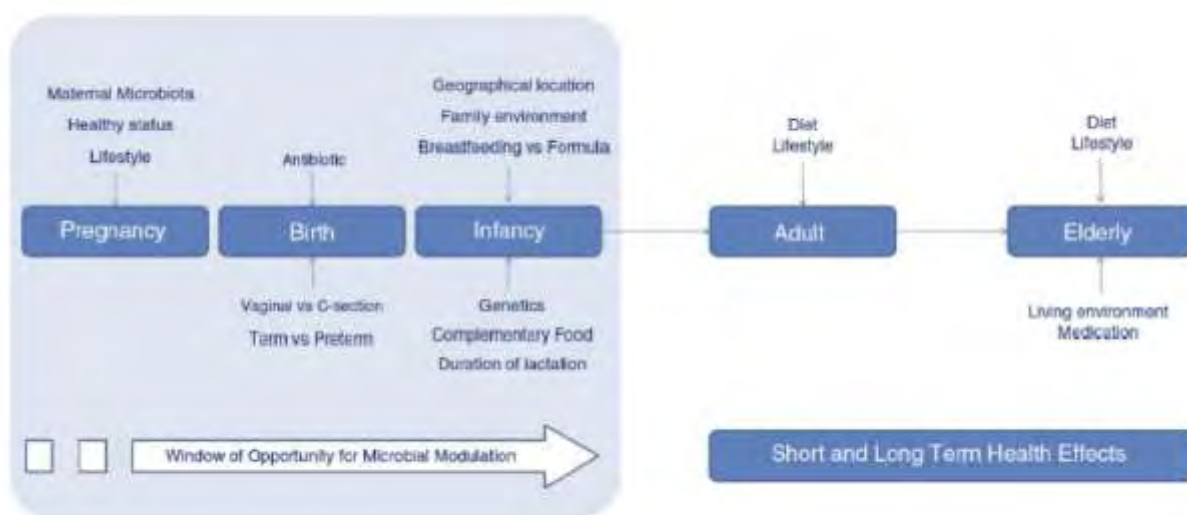
Πιο συγκεκριμένα, τα μικρόβια του εντέρου ενισχύουν την ομαλή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω : α) της διέγερσης της ανοσιακής απόκρισης έναντι πιθανών παθογόνων και β) της καταστολής της ανοσιακής απάντησης έναντι των συμβιωτικών και των διαιτητικών αντιγόνων.[12]

Εκτιμάται ότι το 80% της παραγωγής των αντισωμάτων λαμβάνει χώρα τοπικά στο έντερο, κυρίως παρέχοντας ανοσοσφαιρίνη Α (IgA) [1]. Επιπλέον, συμμετέχουν στο μεταβολισμό του ξενιστή, στο μεταβολισμό των φαρμάκων, στη διατήρηση της δομικής ακεραιότητας του βλεννογόνου, στο μεταβολισμό χολικών αλάτων, στον καταβολισμό φυτικών ινών, βλέννας και λιπαρών οξέων. [8]

Εκτός από τα βακτήρια που έχουν ήδη μελετηθεί αρκετά, πρόσφατα και οι ζύμες έχουν προταθεί ότι συμμετέχουν στο μεταβολισμό του αμύλου. Η κατανόηση της σχέσης μεταξύ των ζυμών και του ανοσοποιητικού συστήματος χαρακτηρίζεται δύσκολη και ελάχιστα είναι τα δεδομένα σχετικά με την δράση τους. Σε ορισμένες ειδικές περιπτώσεις, μπορεί να δράσουν και θεραπευτικά.[11]

1.4. Παράγοντες που επηρεάζουν τον Εντερικό Μικροβιόκοσμο

Πολλοί είναι οι παράγοντες που παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωση ενός «φυσιολογικού» εντερικού μικροβιόκοσμου:



Εικόνα 1.4: Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη του εντερικού μικροβιόκοσμου κατά τη διάρκεια ζωής του ατόμου [13]

i. Ενδομήτρια περίοδος και τρόπος τοκετού (φυσιολογικός ή καισαρική)

Τα δεδομένα που υποδηλώνουν ότι ο ανθρώπινος εντερικός μικροβιόκοσμος ξεκινά πριν την γέννηση του νεογνού αυξάνονται ολοένα και περισσότερο. Το μηκόνιο (τα πρώτα κόπρανα του μωρού) περιέχει βακτήρια, όπου επικρατούν τα Firmicutes. Τα βακτήρια μέσω του πλακούντα και του κυκλοφορικού συστήματος εισέρχονται στον εντερικό αυλό του εντέρου του εμβρύου [13].

Μετά την γέννηση του ανθρώπου, το έντερο αποικίζεται με πολλά μικροβιακά στελέχη και το κάθε άτομο έχει το δικό του εντερικό μικροβιόκοσμο που μεταβάλλεται περαιτέρω κατά την διάρκεια της ζωής του[11].Είναι πολύ σημαντικός ο τρόπος γέννησης του βρέφους καθώς επηρεάζει την ποικιλία των μικροοργανισμών που θα εγκατασταθούν [14]. Στο φυσιολογικό τοκετό το βρέφος δέχεται τους μικροοργανισμούς από τον κόλπο ή τον εντερικό σωλήνα της μητέρας, ενώ στην καισαρική τομή το νεογνό εκτίθεται σε εκείνους του περιβάλλοντος του νοσοκομείου.Ο εντερικός μικροβιόκοσμος σε αυτά τα βρέφη μπορεί να είναι διαταραγμένος για μήνες ή για χρόνια [13].

Είναι αξιοσημείωτο ότι ,τα νεογνά που γεννιούνται με φυσιολογικό τοκετό αναπτύσσουν μικροβίωμα που αντανακλά την κολπική χλωρίδα, ενώ εκείνα που γεννιούνται με καισαρική τομή αναπτύσσουν τη μικροβιακή χλωρίδα του δέρματος με αποτέλεσμα τον καθυστερημένο μικροβιακό αποικισμό από *Bacteroides*, *Bifidobacterium* και *Lactobacillus*.

ii. Κληρονομικότητα

Οι μηχανισμοί στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ξενιστών-βακτηρίων, δεν έχουν περιγραφεί πλήρως. Ελάχιστα είναι τα δεδομένα σχετικά με την σχέση γονότυπου του ξενιστή και των βακτηρίων του εντέρου του. Υπάρχουν όμως, σαφείς ενδείξεις ότι επηρεάζει τους πληθυσμούς του εντέρου. Απλές μεταλλάξεις γονιδίων μπορούν να οδηγήσουν σε μεταβολές της σύνθεσης των μικροοργανισμών στο έντερο [13].Περαιτέρω διερεύνηση απαιτείται ώστε να αποτυπωθούν οι μηχανισμοί με τους οποίους διενεργείται.

Ελάχιστα είναι οι μελέτες οι οποίες συγκρίνουν τον εντερικό μικροβιόκοσμο μεταξύ μελών της οικογένειας. Μελέτη σε μονοζυγωτικά και διζυγωτικά δίδυμα έδειξε μεγαλύτερη ομοιότητα στον εντερικό μικροβιόκοσμο μεταξύ μονοζυγωτικών παρά διζυγωτικών αδερφών,

υποδεικνύοντας τη σημαντικότητα του γενετικού υποβάθρου. Το 2001 ο Vaahotonuo και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι οι ομοιότητες στον εντερικό μικροβιόκοσμο ίδιων στελεχών ποντικών ήταν μεγαλύτερες από ποντίκια διαφορετικού είδους ακόμη και με επίδραση κοινού περιβάλλοντος.[15]Ο ρόλος της γενετικής γονικής επίδρασης στον αποικισμό των μικροοργανισμών στο έντερο δεν έχει διευκρινιστεί. [16]

iii. Η διατροφή κατά το πρώτο διάστημα της ζωής του βρέφους

Τους πρώτους μήνες ζωής του ανθρώπου παρατηρούνται πολλές αλλαγές στους μικροοργανισμούς του εντέρου, ενώ η σταθερότητα και η ποικιλομορφία των γονιδίων των μικροοργανισμών αυξάνονται μετά τα τρία πρώτα χρόνια της ζωής [14]. Ο θηλασμός ή η κατανάλωση υποκατάστατου του μητρικού γάλακτος κατά την βρεφική ηλικία έχει σημαντικές επιπτώσεις στον εντερικό μικροβιόκοσμο του βρέφους καθώς και στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος. [8]

Σε ζωικά μοντέλα, οι δυο διαφορετικοί τρόποι σίτισης των βρεφών αναπτύσσουν διαφορετικούς πληθυσμούς μικροοργανισμών στο έντερο το οποίο οδηγεί σε διαφορές στο ανοσοποιητικό σύστημα. Επηρεάζεται η ανοσία έως και τα πέντε πρώτα χρόνια της ζωής τους.[17]Στον άνθρωπο μελέτες σχετικά με τη διαφορετική χορήγηση γάλακτος στα μωρά είναι λίγες. Αναμφισβήτητα όμως,ο εντερικός μικροβιόκοσμος του μωρού επηρεάζει την ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος και του μεταβολισμού του, όπως και στην ενήλικη ζωή.[17]

Τα βρέφη που θηλάζουν εκτίθενται στον εντερικό μικροβιόκοσμο που προσφέρει το γάλα,το οποίο περιέχει περισσότερο από 700 είδη βακτηρίων.Το μητρικό γάλα περιέχει πολλούς αμυντικούς παράγοντες, που τα υποκατάστατα δεν περιέχουν.Επίσης, φαίνεται ότι οι μεταβολές του εντερικού μικροβιόκοσμου του νεογέννητου προδιαθέτουν ασθένειες και στην μετέπειτα ζωή του. [13]

iv. Η σύσταση της διατροφής στην ενήλικη ζωή

Οι διατροφικές συνήθειες του ενήλικα είναι ένας από τους σημαντικότερους περιβαλλοντικούς παράγοντες που διαμορφώνουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στο έντερο του ανθρώπου. Η βραχυπρόθεσμη ή η μακροπρόθεσμη κατανάλωση των ζωικών ή φυτικών προϊόντων αλλάζει τη δομή του εντερικού μικροβιόκοσμου και η μικροβιακή έκφραση των γονιδίων των μικροοργανισμών μεταβάλλεται.

Χρειάζονται αρκετές μελέτες για να αποσαφηνιστούν οι πληθυσμοί που συνδέονται με διαφορετικές διαιτητικές συνήθειες, αλλά και το χρονικό διάστημα που απαιτείται για να επηρεάσουν τους μικροοργανισμούς του εντέρου.

Η **βραχυπρόθεσμη** διατροφή που βασίζεται σε ζωικά τρόφιμα **αυξάνει** τους μικροοργανισμούς γενών όπως τα **Bacteroides, Alistipes, Bilophila** και **μειώνει** τα επίπεδα των **Roseburia, Eubacterium rectale, Ruminococcus bromii** που ανήκουν στα **Firmicutes** (πληθυσμοί οι οποίοι μεταβολίζουν κυρίως πολυσακχαρίτες φυτικής προέλευσης)[18].

Η μακροχρόνια κατανάλωση δίαιτας πλούσιας σε ζωικά προϊόντα από ενήλικες Αμερικανούς σχετίζεται με το γένος *Bacteroides*, ενώ η μακροχρόνια κατανάλωση φρούτων και λαχανικών από ηλικιωμένους συνδέεται με αύξηση των πληθυσμών του γένους *Prevotella* [6]. Μια αλλαγή στην διατροφή (δηλ., από πολυσακχαρίτη φυτού χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά σε πολυσακχαρίτη φυτού με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε ζάχαρη) μετατόπισε τη δομή του μικροβιοτόπου **μόλις σε μία μόνο** ημέρα, μαζί με μεταβολές στις μεταβολικές οδούς της μικροχλωρίδας.

Αν και ο εντερικός μικροβιόκοσμος ανταπορίνεται σε βραχυπρόθεσμες αλλαγές στη διατροφή, οι μακροπρόθεσμες αλλαγές των θρεπτικών συστατικών φαίνεται να καθορίζουν το είδος του μικροβιακού πληθυσμού [6]. Υπάρχουν διαφορές στην παρουσία των βακτηρίων στο έντερο στις δυο μορφές διατροφής, οι οποίες αντικατοπτρίζουν τις διαφορές στον μεταβολισμό των υδατανθράκων και των πρωτεϊνών. Η αποίκιση των μυκήτων, των ιών και των ζυμών παρατηρείται και στις δυο περιπτώσεις [18].

Η εκτίμηση του πληθυσμού του εντέρου σε 153 Ιταλούς, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η κατανάλωση τροφίμων φυτικής προέλευσης σχετίζεται και με ένα ευεργετικό σύνολο γονιδίων των μικροοργανισμών του εντέρου (microbiome).[19]

Οι συνέπειες στο φαινότυπο των ξενιστών είναι διαφορετικές. Παρατηρήθηκε υψηλή συσχέτιση μεταξύ μίας διατροφής που βασίζεται σε λαχανικά και των αυξημένων επιπέδων βραχείας αλύσου λιπαρών οξέων καθώς και ορισμένων διαιτητικών ινών που αποικοδομούν τα Firmicutes. Τα χαρακτηριστικά της μεσογειακού τύπου διατροφής, δηλαδή η αυξημένη πρόσληψη δημητριακών, φρούτων, λαχανικών και οσπρίων προσφέρουν πολλά οφέλη στο έντερο των ανθρώπων .[19]

Σύμφωνα με μελέτη παρατήρησης που έγινε σε 82 ενήλικα άτομα παρατηρήθηκε ότι οι διαιτητικές ίνες από τα φασόλια, τα φρούτα και τα λαχανικά συσχετίστηκαν με αφθονία ακτινοβακτηρίων και κλωστριδίων [20]. Αλλά και η κατανάλωση του ξινόγαλου, των πολλών γαλακτοκομικών ή η κατανάλωση ζυμωμένων τροφίμων, όπως το κεφίρ, επηρεάζουν τον εντερικό μικροβιόκοσμο και αλλάζουν την δομή του.

Η κατάχρηση του αλκοόλ και οι διαταραχές που προκαλεί στην υγεία του ανθρώπου συνδέεται με ποσοτικές και ποιοτικές αλλαγές στον εντερικό μικροβιόκοσμο (δυσβίωση).[21]

v. Η κατανάλωση αντιβιοτικών

Τα αντιβιοτικά έχουν ως στόχο τους παθογόνους μικροοργανισμούς, αλλά επιδρούν αρνητικά και στους συμβιώντες του εντέρου. Δυστυχώς, επηρεάζουν τον εντερικό μικροβιόκοσμο ειδικά εάν πρόκειται για ευρέως φάσματος αντιβιοτικά τα οποία χρησιμοποιούνται για όλες τις ασθένειες. Η ποικιλομορφία του εντερικού μικροβιόκοσμου μειώνεται, πολλά στελέχη χάνονται και η επανεμφάνισή τους γίνεται σταδιακά και μακροπρόθεσμα [7] γεγονός που αποτελεί σημαντική ανησυχία των ειδικών στο τομέα της υγείας του εντέρου. [8]

vi. Ο τρόπος ζωής και η φυσική δραστηριότητα

Ο σύγχρονος τρόπος ζωής μπορεί να επηρεάσει τον εντερικό μικροβιόκοσμο. Η καθιστική ζωή συμβάλλει στην παχυσαρκία και σε συνδυασμό με το θετικό ενεργειακό ισοζύγιο και την κατανάλωση ζωικών τροφίμων πλούσια σε κορεσμένα λίπη οδηγεί στην ανακατάταξη των πληθυσμών στο έντερο.

Αν και οι μελέτες εμφανίζουν αντιφατικά αποτελέσματα, έχει παρατηρηθεί αύξηση των Firmicutes και μείωση των Bacteroidetes σε άτομα που καταναλώνουν ζωικά τρόφιμα [23].

Η συχνή μέτρια άσκηση έχει επίδραση στην άμυνα του εντέρου, καθώς και στα γονίδια των μικροοργανισμών του εντέρου. Σε μελέτη της επίδρασης της άσκησης στον εντερικό μικροβιόκοσμο 22 αθλητών τονίζεται η ευεργετική επιρροή της άσκησης στην ποικιλομορφία των μικροοργανισμών του εντέρου και υποστηρίζεται πως ο συνδυασμός με τη διατροφή επηρεάζει τη δομή του εντερικού μικροβιόκοσμου [23].

Το κάπνισμα, επηρεάζει επίσης τη σύσταση του εντερικού μικροβιόκοσμου, αυξάνοντας τους πληθυσμούς των γενών *Bacteroides-Prevotella*.

Το άγχος επιδρά στην κινητικότητα του εντέρου ή οποία μπορεί να αλλάξει την δομή των μικροβιακών πληθυσμών, το οποίο μάλιστα έχει ενοχοποιηθεί και για την ανάπτυξη φλεγμονωδών νόσων του εντέρου [22].

vii. Η γεωγραφική θέση

Η ποικιλομορφία στους μικροοργανισμούς του εντέρου σε παιδιά που κατοικούν σε αγροτικές περιοχές είναι μεγαλύτερη από εκείνη των παιδιών σε ανεπτυγμένες χώρες [22]. Μελέτη σε Καυκάσιους και Κινέζους στις Ηνωμένες Πολιτείες και στο Χονγκ Κονγκ κατέληξε ότι υπήρχαν διαφορές στη μικροβιακή σύσταση του εντερικού μικροβιόκοσμου μεταξύ των χωρών και μεταξύ των εθνοτήτων [7]. Στα παιδιά από τη Μπουρκίνα Φάσο βρέθηκε αφθονία σε Bacteroidetes και εξάντληση των Firmicutes, με επίμονη αφθονία των βακτηρίων από το γένος **Prevotella** και **Xylanibacter**, τα οποία είναι γνωστό ότι κωδικοποιούν γονίδια που καθιστούν δυνατή την υδρόλυση της κυτταρίνης και ξυλάνης. Σε αυτά τα παιδιά της Αφρικής πράγματι υπήρξε υψηλότερη περιεκτικότητα λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας (SCFAs). Το εντερικό μικροβίωμα στην αγροτική Αφρική μπορεί να επιτρέψει σε άτομα να μεγιστοποιήσουν την πρόσληψη ενέργειας από τις ίνες προστατεύοντας παράλληλα από τη φλεγμονή και τη μόλυνση.

viii. Η κατανάλωση προ-ή πρε-βιοτικών

Η κατανάλωση των προβιοτικών και των πρεβιοτικών έχει ευεργετικές ιδιότητες στην υγεία του εντέρου.

Τα **προβιοτικά** είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί που έχουν απομονωθεί από τον εντερικό μικροβιόκοσμο υγιών ανθρώπων και χορηγούνται σε επαρκή ποσότητα προς όφελος της υγείας του [9]. Επηρεάζουν τους μικροβιακούς πληθυσμούς του εντέρου και κατά συνέπεια επηρεάζουν το ανοσοποιητικό σύστημα και το μεταβολισμό του ανθρώπου. Οι μηχανισμοί με

τους οποίους δρουν δεν είναι ακόμη σαφείς καθώς κάθε στέλεχος λειτουργεί διαφορετικά.

Τα **πρεβιοτικά** «ως άπεπτα υποστρώματα» στο έντερο βοηθούν στην ανάπτυξη των ευεργετικών μικροοργανισμών του εντέρου και επηρεάζουν με ένα διαφορετικό τρόπο την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά χρησιμοποιούνται στη βελτίωση της συμβίωσης των ενδογενών μικροοργανισμών του εντέρου και κατά συνέπεια στην πρόληψη και στη θεραπεία ορισμένων ασθενειών [1]. Αν και η EFSA (European Food Safety Authority), πρόσφατα αρνήθηκε τους θετικούς ισχυρισμούς συσχέτισης προβιοτικών με την υγεία -λόγω έλλειψης ισχυρών αποδεικτικών στοιχείων, κατανόησης των μηχανισμών δράσης τους- πλήθος μελετών καταδεικνύουν την προσφορά τους στην υγεία των ανθρώπων [5].

Μια ενδιαφέρουσα πτυχή των προβιοτικών είναι η συσχέτισή τους με την παχυσαρκία ή το σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, καθώς φαίνεται ότι ο εντερικός μικροβιόκοσμος των παχύσαρκων διαφοροποιείται από τον αντίστοιχο των μη παχύσαρκων ατόμων [5]. Ίσως η διαμόρφωση του εντερικού μικροβιόκοσμου με τη κατανάλωση προβιοτικών και πρεβιοτικών να μπορεί να προταθεί μελλοντικά για τη θεραπεία της παχυσαρκίας[24].

ix. Παχυσαρκία

Το υπερβολικό βάρος και η παχυσαρκία ,η οποία ορίζεται ως η μη φυσιολογική συσσώρευση λίπους που μπορεί να βλάψει την υγεία ενός ατόμου, θεωρούνται η 5η αιτία θανάτου σε όλο τον κόσμο [25]. Στα συνοδά νοσήματα της παχυσαρκίας που αυξάνονται με πρωτοφανείς ρυθμούς ,συγκαταλέγονται ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, η υπέρταση, η καρδιαγγειακή νόσος, η μη αλκοολική λιπώδης διήθηση ήπατος, η αρθρίτιδα, η κατάθλιψη καθώς και ορισμένες μορφές καρκίνου [26].

Η παχυσαρκία είναι πολυπαραγοντικό νόσημα και εκτός από τη γενετική προδιάθεση, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες (αυξημένη ποσότητα

τροφής, τροφή πλούσια σε ενέργεια, μειωμένη φυσική δραστηριότητα) θεωρείται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο [28].

Τα τελευταία χρόνια ολοένα και περισσότερες μελέτες συνδέουν τη σύνθεση του εντερικού μικροβιόκοσμου με την παχυσαρκία και τις συναφείς ασθένειες που προκαλούνται από αυτή [27]. Μελέτες σε ζώα (παχύσαρκα και μη) καταδεικνύουν τη ποικιλομορφία των μικροοργανισμών στο έντερο.

Το σύνολο των μικροοργανισμών και ο καθένας με τη δική του συμβολή, ανταποκρίνονται και συμβάλλουν στο ενεργειακό ισοζύγιο του ξενιστή [29]. Χρησιμοποιούν την ενέργεια που παράγεται από την κατανάλωση των τροφίμων και επηρεάζουν το μεταβολισμό του [27]. Αρκετές είναι οι μελέτες οι οποίες αξιολογούν τις διατροφικές συνήθειες υπέρβαρων, παχύσαρκων και φυσιολογικών ενηλίκων και τις συγκρίνουν με τη βιοποικιλότητα και την αφθονία μικροοργανισμών στο ανθρώπινο έντερο. Ορισμένες έχουν αντιφατικά αποτελέσματα τα οποία μπορεί να οφείλονται στις διατροφικές συνήθειες του ξενιστή ή στη φυσιολογία του ξενιστή [30]. Η παχυσαρκία συνδέεται με μειωμένη βακτηριακή ποικιλότητα και αλλαγές σε επίπεδο στελεχών και γένους [31].

Στον Πίνακα 1.1 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι μεταβολές στις μεγάλες βακτηριακές ομάδες (Φύλα) του εντερικού μικροβιόκοσμου κατά την παχυσαρκία, σε σχέση με το φυσιολογικό βάρος.

Πίνακας 1.1: Μεταβολές του εντερικού μικροβιόκοσμου κατά την παχυσαρκία [33].

Firmicutes	Αύξηση της συγκέντρωσης των Firmicutes
Bacteroidetes	Μείωση της συγκέντρωσης των Bacteroidetes

Actinobacteria	Υψηλότερο επίπεδο των Actinobacteria
Verrucomicrobia	Μικρότερη αναλογία των Verrucomicrobia

Η διαδικασία της απώλειας βάρους φαίνεται ότι συνδέεται με αλλαγές στην εκπροσώπηση των βακτηρίων και των γονιδίων τους [27]. Παρατηρείται μεταβολή στην αναλογία των Firmicutes/ Bacteroidetes σε άτομα που μελετήθηκαν πριν, κατά την διάρκεια και μετά την απώλεια βάρους. Η απώλεια του βάρους αυξάνει τα είδη των Bacteroides [34].

Η ποικιλότητα των γονιδίων του εντερικού μικροβιόκοσμου (εντερικό μικροβίωμα) είναι μικρότερη στα παχύσαρκα άτομα έναντι των αδυνάτων και αυξάνεται πάλι κατά την διάρκεια της απώλειας του βάρους. Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί ως προς την επίδραση του εντερικού μικροβιώματος στο ενεργειακό ισοζύγιο του ξενιστή, οι μελέτες όμως σε ανθρώπους είναι ελάχιστες [29].

1.5.Συμβίωση, δυσβίωση και ανοσοποιητικό σύστημα

Η σχέση μεταξύ του ανθρώπινου μικροβιώματος του εντέρου και του ξενιστή είναι συμβιωτική, κατά την οποία τόσο ο ξενιστής όσο και οι μικροοργανισμοί έχουν κοινή ωφέλεια. Από την πλευρά του ο ξενιστής προσφέρει τόπο ανάπτυξης και διατροφής στα συμβιωτικά εντερικά βακτήρια, τα οποία με τη σειρά τους ευνοούν τη λειτουργία του ξενιστή αφ' ενός επάγοντας αντίσταση στις λοιμώξεις και αφ' ετέρου διευκολύνοντας την απορρόφηση των τροφών που έχουν υποστεί πέψη.[30]

Φαίνεται, επομένως, ότι οι ευκαρυωτικοί ξενιστές και τα συμβιωτικά βακτήρια έχουν «συνεξελιχθεί» με αμοιβαίες αλληλεπιδράσεις που βασίζονται σε διατροφικά οφέλη τα οποία απολαμβάνουν και οι δύο πλευρές. Όταν η ισορροπία αυτή διαταράσσεται (δυσβίωση) για διάφορους λόγους, όπως η

επαναλαμβανόμενη και ακατάλληλη χρήση αντιβιοτικών ή η κατάχρηση οιοπνεύματος, μπορεί να δημιουργηθούν παθολογικές καταστάσεις, όπως μικρού βαθμού χρόνια φλεγμονή του εντέρου ή μεταβολικές διαταραχές.[21]

Οι αλληλεπιδράσεις των (συμβιωτικών) μικροβίων μεταξύ τους παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Έχει παρατηρηθεί αρνητική συσχέτιση μεταξύ των μελών της οικογένειας των *Bacteroides* και εκείνης των *Prevotellaceae* (που ανήκουν, επίσης, στο φύλο των *Bacteroides*) στο έντερο, γεγονός που μπορεί να αντανakλά εναλλακτικές «μεταβολικές εξειδικεύσεις» σε ένα κατά τα άλλα παρόμοιο εντερικό περιβάλλον. Αντίστροφα, τα μέλη του είδους *Aggregatibacter* σχετίζονται θετικά με μέλη της διαφορετικής οικογένειας των *Flavobacteriaceae*, π.χ. στο σίελο.[34]

Ο οργανισμός του ξενιστή έρχεται σε επαφή τόσο με παθογόνα μικρόβια από το περιβάλλον όσο και με τα μικρόβια της εντερικής χλωρίδας. Οι παλαιότερες μελέτες για το ανοσοποιητικό σύστημα εστίαζαν στους μηχανισμούς με τους οποίους το σύστημα αυτό μπορεί να αμύνεται έναντι των παθογόνων μικροβίων.

Σήμερα αναγνωρίζεται ότι το ανοσοποιητικό σύστημα έχει εξελιχθεί με τέτοιο τρόπο, ώστε να μπορεί να φιλοξενεί συμβιωτικές βακτηριακές κοινότητες αυξανόμενης πολυπλοκότητας, ενώ παράλληλα να διατηρεί την ικανότητα καταπολέμησης των παθογόνων βακτηρίων.[12]

Το ανθρώπινο μικροβίωμα του εντέρου έχει σημαντική επίδραση πάνω στην ανάπτυξη τόσο της έμφυτης όσο και της επίκτητης ανοσίας. Τα περισσότερα σχετικά δεδομένα προέρχονται από πειραματικές μελέτες που συνέκριναν μύες με φυσιολογική χλωρίδα στο έντερό τους σε σχέση με μύες που είχαν στείρο μικροβίων “germ-free” εντερικό περιεχόμενο . [36]

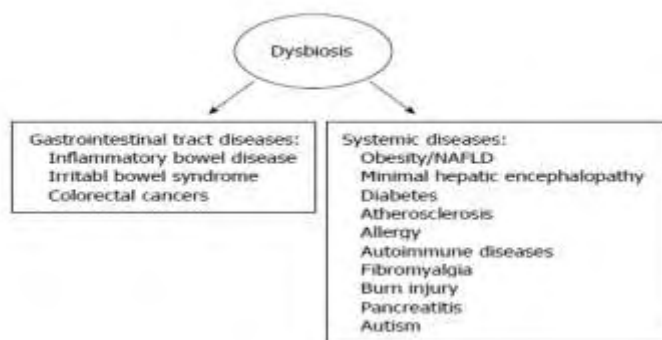
Έχει βρεθεί ότι οι σπλήνες των στείρων μικροβίων μυών περιέχουν λιγότερα και μικρότερα βλαστικά κέντρα στους λεμφαδένες και μειωμένο αριθμό CD T4 κυττάρων μνήμης στο εντερικό επιθήλιο, ότι η παραγωγή

κυτταροκινών ανήκει σε ανοσιακή απόκριση τύπου Th 2 και ότι τα ζώα αυτά έχουν ελαττωμένη ικανότητα έκκρισης μικροβιοκτόνων παραγόντων.[11]

Ο επαναποικισμός των μυών αυτών με ειδικά για τους μύες βακτήρια μπορεί να αντιστρέψει ορισμένες από τις εν λόγω διαταραχές, όπως δείχνει πειραματικά η αποκατάσταση της συστημικής ανεπάρκειας των T κυττάρων, καθώς και της ανισορροπίας του λόγου Th1/Th2 στείρο μικροβίων μυών μετά από το μονήρη αποικισμό του εντέρου των μυών με το βακτήριο *Bacteroides fragilis*. [13]

Παρόμοιες μελέτες συνολικά υπογραμμίζουν τη σημασία του εντερικού μικροβιώματος για τη φυσιολογική ανάπτυξη του περιφερικού ανοσοποιητικού συστήματος σε ανοσοεπαρκείς ξενιστές. Οι μηχανισμοί πάντως μέσω των οποίων το ανθρώπινο μικροβίωμα επιδρά στο περιφερικό ανοσοποιητικό σύστημα δεν είναι πλήρως κατανοητοί και αποτελούν αντικείμενο εντατικής έρευνας. Έχει διαπιστωθεί ότι διαλυτοί παράγοντες από την εντερική χλωρίδα μπορεί να μετακινηθούν από τη γαστρεντερική οδό στην κυκλοφορία του αίματος και να ενεργοποιήσουν τα πρωτογενή ανοσολογικά κύτταρα. [14]

Η έκκριση βακτηριακών τοξινών και η δράση κάποιων μικροβιακών μεταβολικών προϊόντων μπορεί να οδηγήσουν σε σοβαρές φλεγμονές οι οποίες να εξελιχθούν σε καρκίνο του παχέος εντέρου [12]. Επίσης, η ζύμωση αυξημένων ποσοτήτων πρωτεϊνούχων ενώσεων στο κόλον, πιθανόν να είναι επιβλαβής σε ορισμένες καταστάσεις όπως ο καρκίνος του παχέος εντέρου και οι φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου [1]. Τέλος, η αύξηση του πληθυσμού ζυμών του γένους *Candida* οδηγεί συχνά σε αυξημένο κίνδυνο σοβαρών λοιμώξεων. [11]



Εικόνα 1.5 : Γαστρεντερικές παθήσεις που σχετίζονται με τον τροποποιημένο εντερικό μικροβίωμα [24]

1.6.Εξοικονόμηση ενέργειας που επηρεάζεται από το εντερικό μικροβίωμα

Το εντερικό μικροβίωμα οφείλει τον ξενιστή με πολλούς τρόπους συμβάλλοντας στην εξοικονόμηση ενέργειας από διαφορετικούς μη πέψιμους κοινούς πολυσακχαρίτες [35] μέσω ενζύμων όπως υδρολάσες γλυκοσίδης και άλλων ενζύμων που δεν κωδικοποιούνται στο ανθρώπινο γονιδίωμα [36] .

Μελέτες σε ποντίκια με εντερικό μικροβίωμα στείρο μικροβίων (germ free) αποκάλυψαν ότι το εντερικό μικροβίωμα ενισχύει τη ρύθμιση της αποθήκευσης λίπους αλλά και την παχυσαρκία κυρίως λόγω αύξησης της παραγωγής ενέργειας από τα τρόφιμα [37]. Τα συγκεκριμένα ποντίκια (germ free) προστατεύονται από την παχυσαρκία και το μεταβολικό σύνδρομο [37]. Συγκεκριμένα, η αποκατάσταση της συμβατικής εντερικής χλωρίδας των ποντικών germ free έχει ως αποτέλεσμα σημαντική αύξηση του **σωματικού λίπους**, των **ηπατικών τριγλυκεριδίων**, της **γλυκόζης νηστείας στο πλάσμα** και της **αντίστασης στην ινσουλίνη**. Η παρουσία μικροβιακού πληθυσμού ενίσχυσε την πρόσληψη των εντερικών μονοσακχαριτών, με αποτέλεσμα την αυξημένη de novo λιπογένεση και τη συσσώρευση τριγλυκεριδίων του ήπατος και του λιπώδους ιστού.

Με τη χρήση τροφής, ποντικοί ob / ob αναφέρθηκαν ότι εξοικονομούν ενέργεια από τα τρόφιμα αποτελεσματικότερα συγκριτικά με τα αδύνατα - άγριου τύπου- ποντίκια[38]. Η μεταγονιδιωματική ανάλυση ακολουθίας μαζί με το μεταβολικό μονοπάτι που σχετίζεται με την αναδιαμόρφωση της απομακρυσμένης εντερικής χλωρίδας των ob / ob ποντικών αποκάλυψε ότι η σχετική αύξηση των Bacteroidetes και Firmicutes συνδέθηκε με αλλαγή στο μεταβολικό δυναμικό της μικροχλωρίδας, το οποίο προσδίδει στο εντερικό μικροβίωμα ob / ob αυξημένη ικανότητα κατανάλωσης ενέργειας από τη διατροφή [39]. Είναι αξιοσημείωτο ότι αυτό το χαρακτηριστικό της παχυσαρκίας ήταν μεταδοτικό μέσω των μεταμοσχεύσεων κοπράνων από παχύσαρκους σε σύγκριση με αδύνατους germ-free ποντικούς.[39].

Τα Ob / ob ποντίκια επίσης διαθέτουν περισσότερα μεθανονικά archaea τα οποία μπορεί να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα της βακτηριακής ζύμωσης μέσω απομάκρυνσης του H₂ [39]. Μελέτες με το Methanobrevibacter smithii καθώς και με Bacteroides thetaiotaomicron αποκάλυψαν ότι ο συναποικισμός όχι μόνο ενίσχυσε την αποτελεσματικότητα, αλλά άλλαξε την ειδικότητα της ζύμωσης των βακτηρίων μέσω της απομάκρυνσης των βακτηριακών πολυσακχαριτών, αυξάνοντας τη λιπώδη τάση σε σύγκριση με τους ποντικούς που αποικίστηκαν μόνο με τον έναν οργανισμό [40].

Περαιτέρω μελέτες ανέδειξαν πρόσθετες συσχετίσεις αναφορικά με το ενδεχόμενο αυξημένης εξοικονόμησης ενέργειας μέσω της επαγόμενης από τη διατροφή μικροχλωρίδας ή της γενετικά επαγόμενης από την παχυσαρκία μικροχλωρίδας [41]. Τόσο η ηλικία όσο και η διατροφή είναι σημαντικοί παράγοντες όχι μόνο για τη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος, αλλά και για τις δυνατότητες εξοικονόμησης ενέργειας.

1.7.Ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στην παθογένεση της παχυσαρκίας και στην αντίσταση στην ινσουλίνη

Οι πρώτες μελέτες που επικεντρώθηκαν στον ρόλο που διαδραματίζει το μικροβίωμα στην παχυσαρκία και τον σακχαρώδη διαβήτη σε ανθρώπους και τρωκτικά αποκάλυψαν σημαντικές διαφορές μεταξύ αδύνατων και παχύσαρκων ατόμων στα δύο κυρίαρχα φύλα της εντερικής μικροχλωρίδας και ειδικότερα μια αύξηση στην αναλογία των **Firmicutes/ Bacteroidetes** [42].

Αυτή η διαφορά, ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε σε όλες τις μελέτες και στην πραγματικότητα, τα ποντίκια 129Sv με ανοχή στην παχυσαρκία έχουν υψηλότερη αναλογία Firmicutes από Bacteroidetes από ότι τα ποντίκια B6J [43].

Παρ'όλα αυτά, οι Turnbaugh και οι συνάδελφοι κατέδειξαν ότι η μεταφορά εντερικού μικροβιώματος από παχύσαρκους ανθρώπους ή παχύσαρκους ποντικούς σε ποντίκια **C57B1 / 6 χωρίς μικρόβια** είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη αύξηση βάρους στους ποντικούς-δέκτες σε σύγκριση με ποντικούς που λαμβάνουν μικροβιώματα από τα αδύνατα άτομα [44], γεγονός που υποδηλώνει ότι υπάρχει αιτιώδης σχέση μεταξύ των μεταβολών στο εντερικό μικροβίωμα και της ανάπτυξης της παχυσαρκίας

Δεν έχει αναγνωριστεί καθολικά κάποιο μικρόβιο που να οδηγεί σε διαφορετική αύξηση βάρους. Ωστόσο σε διάφορες μελέτες έχουν παρατηρηθεί συσχετίσεις πρόσληψης βάρους με διαφορετικά μεμονωμένα βακτηριακά είδη, συμπεριλαμβανομένων των **Akkermansia muciniphila**, **Faecalibacterium prausnitzii** [45] **Lactobacillus reuteri** και **Roseburia intestinalis**.

Η πολυπλοκότητα στον προσδιορισμό της αιτίας και του αποτελέσματος απεικονίζεται σε μια μελέτη από τους Goodrich και τους συναδέλφους [46], η οποία κατέδειξε μια ισχυρή συσχέτιση του δείκτη μάζας

σώματος (ΔΜΣ) σε ανθρώπους με μικροβίωμα της οικογένειας του **Christensenellaceae**.

Με τη μεταμόσχευση μικροβίων από δότες σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια χωρίς μικροβίωμα παρατηρήθηκε μειωμένη πρόσληψη βάρους με την παρουσία του Christensenellaceae, γεγονός που θα μπορούσε να συμβεί και με τη χορήγηση ενός μέλους της οικογένειας *Christensenella minuta*. Οι παρατηρούμενες επιδράσεις δεν φαίνεται να οφείλονται μόνο στη Christensenellaceae, αλλά και στην αλλοιωμένη σύνθεση του μικροβιακού οικοσυστήματος, που εμφανίστηκε παρουσία ή απουσία αυτών των βακτηριδίων.

Πράγματι, άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι η ταυτοποίηση μεμονωμένων βακτηριακών οικογενειών ή ειδών που σχετίζονται με συγκεκριμένη ασθένεια ή ξενιστή όπως η παχυσαρκία, επηρεάζεται έντονα από την εθνικότητα, την οικονομική κατάσταση και τη γεωγραφική περιοχή των ατόμων, κάνοντας δύσκολη την αναπαραγωγή μερικών συσχετίσεων που παρατηρήθηκαν σε συγκεκριμένες μελέτες [47].

Άλλη έρευνα έχει υποδείξει ότι αντί για συγκεκριμένους οργανισμούς, μια απώλεια στη μικροβιακή ποικιλομορφία σχετίζεται με την ανάπτυξη της παχυσαρκίας και άλλες μεταβολικές ασθένειες [48]. Η απώλεια της μικροβιακής ποικιλότητας έχει επίσης αναγνωριστεί ως παράγοντας κινδύνου για τις φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου και άλλες μη μεταβολικές διαταραχές [49]. Εάν αυτή η μικρή ποικιλομορφία είναι αιτία ή συνέπεια μεταβολικής νόσου είναι δύσκολο να τεκμηριωθεί, καθώς τα ζώα με παρόμοιους βαθμούς ποικιλότητας μπορεί να έχουν πολύ διαφορετική τάση στην παχυσαρκία και στο διαβήτη [50]. Η μειωμένη διατροφική ποικιλομορφία, η οποία είναι συνηθισμένη στις περισσότερες χώρες με αύξηση των ποσοστών παχυσαρκίας, μπορεί να οδηγήσει σε παρόμοια απώλεια της μικροχλωρίδας [51], υποδεικνύοντας και πάλι τις έντονες αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των κινητήριων δυνάμεων στην παθογένεση των μεταβολικών διαταραχών.

1.8. Συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με το μεταβολισμό των λιπιδίων

Οι πρώτες μελέτες που συγκρίνουν τα απαλλαγμένα από μικρόβια ποντίκια με τα συμβατικά μεγαλωμένα ποντίκια υποστήριζαν πρώτα ένα ρόλο για τα μικρόβια του εντέρου τόσο στον επηρεασμό του μεταβολισμού ενέργειας του ξενιστή όσο και στη ρύθμιση των επιπέδων λιπιδίων [52]. Ωστόσο, ο σχεδιασμός αυτών των πρώιμων μελετών δεν επέτρεψε την ταυτοποίηση υποψήφιων μικροβίων που εμπλέκονται στην προαγωγή των παρατηρούμενων φαινοτυπικών αλλαγών σε συμβατικά ποντίκια (αποικισμένα με μικρόβια).

Δεδομένης της γνωστής κλινικής συσχέτισης μεταξύ παχυσαρκίας, συσχετιζόμενων μεταβολικών διαταραχών και δυσλιπιδαιμίας, είναι πιθανό ότι οι παρατηρούμενες συσχετίσεις μεταξύ βακτηριακών ειδών στο έντερο και επιπέδων λιπιδίων διαμεσολαβούνται μέσω επιδράσεων στο Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) ή σε άλλες μεταβολικές διαταραχές. Η έννοια αυτή υποστηρίζεται από πρόσφατη ανάλυση σε πληθυσμιακό επίπεδο η οποία όχι μόνο επιβεβαίωσε προηγουμένως γνωστές συσχετίσεις μεταξύ παχυσαρκίας και ορισμένων βακτηριδιακών ταξινομικών κατηγοριών, όπως η *Akkermansia*, *Christensenellaceae* και *Tenericutes* [53], αλλά επίσης απέδειξε ότι κάποιες από τις ενώσεις με μικροβιακή σύνθεση μοιράστηκαν μεταξύ του ΔΜΣ και των επιπέδων των τριγλυκεριδίων και των HDLs [54]. Είναι σημαντικό, ωστόσο, ότι αυτές οι αναλύσεις αποκάλυψαν μικροβιακά είδη των οποίων οι αναλογίες συσχετίστηκαν με λιπίδια ανεξάρτητα από το ΔΜΣ, συμπεριλαμβανομένων νέων συσχετίσεων με *Eggerthella*, *Pasteurellaceae* και *Butyricimonas*.

Παραδόξως, παρατηρήθηκαν μόνο αδύναμες σχέσεις μεταξύ των μικροβιακών παραλλαγών και των επιπέδων της ολικής χοληστερόλης ή των επιπέδων της LDL χοληστερόλης, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα βακτήρια του εντέρου επηρεάζουν συγκεκριμένες πλευρές του μεταβολισμού των λιπιδίων ή και διαφορετικές κατηγορίες λιποπρωτεϊνών.

2. Εντερικό μικροβίωμα και μεταβολικά νοσήματα

Τα θηλαστικά εξελίχθηκαν τα τελευταία 160 εκατομμύρια χρόνια παράλληλα με έναν τεράστιο αριθμό μικροβίων που αποικίζουν το δέρμα και τους βλεννογόνους. Οι περισσότεροι από αυτούς τους μικροοργανισμούς ανευρίσκονται στο γαστρεντερικό σωλήνα. Ο αριθμός τους καθώς και το είδος τους καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από τη διατροφή, αλλά και φυλογενετικά.[55]

Δεδομένου ότι απαιτούνται περίπου ένα εκατομμύριο χρόνια για να εξελιχθεί μόλις το 0,3% του ευκαριωτικού γονιδιώματος, καθίσταται εύκολα κατανοητό, ότι περίπου το 50-55% του ανθρώπινου γονιδιώματος εξελίχτηκε παράλληλα και φυσικά σε στενή σχέση με αυτούς τους μικροοργανισμούς. Προέκυψε μαζί με αυτήν τη μακροχρόνια γενετική εξέλιξη, άλλη μία αρκετά σημαντική παρατήρηση ότι τα μεταβολικά νοσήματα συνοδεύονται από μια αλλαγή στη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος τόσο στα ζώα όσο και στον άνθρωπο.[56]

Η ανάπτυξη τεχνικών που είναι υπεύθυνες για τον προσδιορισμό της γονιδιακής αλληλουχίας επέτρεψε την ανάλυση κοπράνων από παχύσαρκους ασθενείς και την ταυτοποίηση του είδους των εντερικών μικροβίων.[57]

Μελέτες έδειξαν ότι οι παχύσαρκοι ασθενείς χαρακτηρίζονται από μεταβολές σε δύο κύριες κατηγορίες βακτηρίων, τα **Bacteroidetes** και τα **Firmicutes**[58] και ότι διαπιστώθηκε μείωση του λόγου Bacteroidetes/Firmicutes στα παχύσαρκα άτομα σε σχέση με τα ισχνά γεγονός που υποδηλώνει ότι η παχυσαρκία συνδέεται με αλλαγές στο εντερικό μικροβίωμα. Επιπρόθετα παρατηρήθηκε ότι το μικροβίωμα του εντέρου είναι κοινό μεταξύ των μελών της ίδιας οικογένειας, αλλά παρουσιάζει ποικιλία στο βαθμό ανάπτυξης συγκεκριμένων βακτηριακών ειδών, όταν

συγκρίθηκαν τα ζεύγη των δίδυμων αδελφών ανάλογα με την παρουσία ή όχι παχυσαρκίας.[59]

Το **εντερικό μικροβίωμα**, εκτός από την παχυσαρκία, παρουσιάζει **συσχέτιση με τον ΣΔ τύπου 2(ΣΔ2)**. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι οι **συγκεντρώσεις των Firmicutes και Clostridia είναι μειωμένες σε ασθενείς με διαβήτη** συγκριτικά με υγιή άτομα [60], ενώ ο λόγος των συγκεντρώσεων των **Bacteroidetes/Firmicutes** και των **Bacteroides-Prevotella** προς την ομάδα **C.coccoides-E.rectale** παρουσιάζει **θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση της γλυκόζης πλάσματος**.

Επίσης, σε πειραματόζωα, στα οποία η παχυσαρκία προκλήθηκε από διαταραχή του υποθαλάμου, παρατηρήθηκε **μεταβολή στις συγκεντρώσεις των εντερόκοκκων και λακτοβάκιλλων**, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο **εγκέφαλος κατέχει σημαντική θέση στον έλεγχο του εντερικού μικροβιώματος**.[61]Όμοια, σε ποντίκια που έφεραν **μετάλλαξη στο γονίδιο του υποδοχέα λεπτίνης** παρατηρήθηκε μεταβολή στην ανάπτυξη του μικροβιώματος, με υπεροχή των Firmicutes έναντι των Bacteroidetes, σε σχέση με ποντίκια που δεν έφεραν τη μετάλλαξη.[62]

Πολλές πειραματικές μελέτες δείχνουν την ύπαρξη μιας **άμεσης σχέσης μεταξύ της διατροφής και της δομής του εντερικού μικροβιώματος**. Κατά τη μετάβαση από μία διαίτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και υψηλού φυτικού υπολείμματος σε διαίτα υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες, παρατηρείται μεταβολή στη δομή του μικροβιώματος, αλλά με ταυτόχρονη τροποποίηση των μεταβολικών οδών και της γονιδιακής έκφρασης.[63]

Επιπλέον, η **αλλαγή των διατροφικών συνηθειών έχει συσχετισθεί με αυξημένη εντερική διαπερατότητα στους λιποπολυσακχαρίτες, αντίσταση στην ινσουλίνη και διαφορετική ανταπόκριση στην αντιβιοτική θεραπεία**.

Ποντίκια που έλαβαν **δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά παρουσίασαν μεγαλύτερη ευαισθησία στην αντιβιοτική θεραπεία**. Η παρατήρηση αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς τις τελευταίες δεκαετίες το λίπος έχει αντικαταστήσει τις φυτικές ίνες στη διατροφή, έτσι μειώθηκε η προβιοτική δράση των φυτικών ινών και παρουσιάστηκαν μεταβολές όσον αφορά το εντερικό μικροβίωμα που συσχετίζονται με την εμφάνιση ΣΔ2.

Η βαριατρική χειρουργική, και κυρίως η Roux-en Y (γαστρική παράκαμψη), χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της νοσογόνου παχυσαρκίας, με εξίσου καλά αποτελέσματα στα άτομα με ΣΔ2. Μια από τις συνέπειες της γαστρικής παράκαμψης είναι η μεταβολή της έκκρισης του **Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)**[64], καθώς και η **τροποποίηση του εντερικού μικροβιώματος**. [65]

Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι στα **νορμοβαρικά** αλλά και στα **παχύσαρκα** άτομα επικρατούν τα **Firmicutes**, ενώ τα **Firmicutes** είναι μειωμένα στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε γαστρική παράκαμψη. Παράλληλα διαπιστώνεται αύξηση των Gamma proteobacteria. Εκτιμάται όλο και περισσότερο ότι το εντερικό μικροβίωμα συμβάλλει τόσο στην υγεία όσο και τις ασθένειες. Το ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα έχει προκύψει ως περιβαλλοντικός παράγοντας που συμβάλλει στον μεταβολισμό έχοντας ως αρχική βάση ότι τα ποντίκια χωρίς βλαστικά κύτταρα (GF) έχουν μειωμένο λιπώδη ιστό, φαινότυπο που μπορεί να αντιστραφεί με αποικισμό με φυσιολογικό μικροβίωμα [66].

Η παχυσαρκία μέσω της αντίστασης στην ινσουλίνη συνδέεται με επιπλοκές όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ2), η καρδιαγγειακή νοσηρότητα και η μη αλκοολικής αιτιολογίας στεατοηπατίτιδα και τις επιπλοκές της, την κίρρωση του ήπατος και τον καρκίνο.

Το εντερικό μικροβίωμα αποκτάται περιβαλλοντικά από τη γέννηση [67] επομένως μπορεί να λειτουργήσει ως περιβαλλοντικός παράγοντας

που αλληλεπιδρά με την γενετική του ξενιστή για τον σχηματισμό φαινοτύπου, καθώς και ένα γενετικά προσδιορισμένο χαρακτηριστικό που διαμορφώνεται από τον ξενιστή και αλληλεπιδρά με τον ξενιστή.[68]

Επειδή το μικροβίωμα μπορεί να έχει θεραπευτικές εφαρμογές[69], αποτελεί έναν ελκυστικό στόχο για επίτευξη. Μόλις οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ γενετικής του ξενιστή και του μικροβιώματος γίνουν κατανοητές για ένα δεδομένο γονιδίωμα ξενιστή, η μείωση του κινδύνου ασθένειας θα μπορούσε να βελτιστοποιηθεί.

Παρόλο που τα εντερικά μικροβιώματα μπορούν να διαφέρουν σημαντικά στην ποικιλομορφία σε ενήλικες [70], συχνά παρατηρείται ότι τα μέλη της οικογένειας έχουν παρόμοια μικροβιώματα σε σχέση με άτομα που δεν ανήκουν στην ίδια οικογένεια[71].

Οι ομοιότητες μεταξύ των οικογενειών συνήθως αποδίδονται στις κοινές περιβαλλοντικές επιρροές, όπως η διατροφική προτίμηση, που διαμορφώνει σε μεγάλο βαθμό τη σύνθεση του μικροβιώματος[72]. Ωστόσο, τα άτομα που ανήκουν στην ίδια οικογένεια μοιράζονται μεγαλύτερο βαθμό της γενετικής ταυτότητας, αυξάνοντας την πιθανότητα να μοιραστούν τη γενετική σύνθεση η οποία υποκρύπτει ομοιότητες του μικροβιώματος στην οικογένεια .

Η γενετική επίδραση του ξενιστή στο μικροβίωμα υποστηρίζεται κυρίως από μελέτες που λαμβάνουν στοχοθετημένη προσέγγιση. Για παράδειγμα, το ποσοστό συμμόρφωσης για τη μεταφορά του μεθανογόνου *Methanobrevibacter smithii* είναι υψηλότερο για τα μονοζυγωτικά (MZ) από τα διζυγωτικά δίδυμα [73], και σε μελέτες που συγκρίνουν μικροβιώματα μεταξύ ανθρώπων τα οποία διαφέρουν σε συγκεκριμένους γενετικούς τόπους παρουσιάζονται αλληλεπιδράσεις γονιδίου-μικροβιώματος[74].

2.1.Εντερικό μικροβίωμα και μεταβολικό σύνδρομο

Το μεταβολικό σύνδρομο (MetS) είναι μια ομάδα συναφών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης της παχυσαρκίας, της αντίστασης στην ινσουλίνη, του διαβήτη τύπου 2, των καρδιαγγειακών παθήσεων και της μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδους ηπατικής νόσου (NAFLD)[75]. Οι συνήθεις παράγοντες κινδύνου προδιαθέτουν σε αυτές τις ασθένειες, και στην πραγματικότητα κάθε μία από αυτές τις ασθένειες του μεταβολικού συνδρόμου θεωρείται παράγοντας κινδύνου για τους άλλους. Οι συνήθεις παράγοντες κινδύνου για τα χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου είναι η κοιλιακού τύπου παχυσαρκία, η υπεργλυκαιμία, η υπέρταση, τα αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων και η χαμηλή HDL [75]. Ο επιπολασμός του MetS αυξάνεται και εκτιμάται ότι καλύπτει περίπου το 25-35% του ενήλικου πληθυσμού παγκοσμίως υπογραμμίζοντας την ανάγκη για τον έλεγχο των παραγόντων κινδύνου, την ανάπτυξη και την εξέλιξη των ασθενειών που συνδέονται με το MetS.

2.2.1.Περιορισμένη αποτελεσματικότητα των παγκόσμιων διαιτητικών συστάσεων στο μεταβολικό σύνδρομο

Ένας σημαντικός περιορισμός της παγκόσμιας διατροφικής σύστασης είναι ότι πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι εγγενείς ιδιότητες των τροφίμων, όπως ο γλυκαιμικός δείκτης GI που εκτιμά την μεταγευματική γλυκαιμική απόκριση (PPGR) σε συγκεκριμένα είδη διατροφής. Σε μελέτη οι 800 συμμετέχοντες επέδειξαν αξιοσημείωτες διαφορές στις PPGRs τόσο σε τυποποιημένα όσο και σε γεύματα πραγματικής ζωής π.χ λευκό ψωμί με πολλούς συμμετέχοντες να έχουν διαφορετικές απαντήσεις στα ίδια

τρόφιμα[75]. Αυτά τα ευρήματα θέτουν υπό αμφισβήτηση τη δυνατότητα εφαρμογής των παγκόσμιων διατροφικών συστάσεων, βασισμένων αποκλειστικά στις ιδιότητες των τροφίμων. Έτσι, κατανοώντας τους παράγοντες που οδηγούν τις διαπροσωπικές διαφορές στην ανταπόκριση στα τρόφιμα είναι ζωτικής σημασίας για τη βελτίωση της εξατομικευμένης διατροφής και για την πρόληψη του MetS.

2.2.2. Το μικροβίωμα στο MetS

Οι διαφορές μεταξύ των ατόμων στον κίνδυνο ανάπτυξης MetS, οι εκδηλώσεις ασθένειας και η ανταπόκριση στη διατροφή και την ιατρική περίθαλψη, συχνά αποδίδονται στη γενετική και τον τρόπο ζωής. Εκτός από αυτούς τους παράγοντες, η σύνθεση του μικροβιώματος παρουσιάζει επίσης σημαντική μεταβλητότητα στον ανθρώπινο πληθυσμό [76], που καθορίζεται από τη διατροφή, την ηλικία και τη γενετική του ξενιστή [77].

Η σύνθεση του μικροβιώματος και η σύνδεσή του με τον ξενιστή μπορούν να επηρεάσουν διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες και διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο σε πολλές ασθένειες, όπως στα μεταβολικά νοσήματα [78] (εικόνα 1.6). Μια μελέτη από την ομάδα του Jeffrey Gordon έδειξε ότι το εντερικό μικροβίωμα είναι διαφορετικό σε παχύσαρκους σε σύγκριση με τα αδύνατα άτομα και τα τρωκτικά [79] και ότι η αλληλεπίδρασή του με τον ξενιστή μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την εξέλιξη της παχυσαρκίας [79].

Οι επακόλουθες μελέτες απέδειξαν από τότε τη σχέση και τη συμβολή της μικροβιακής δυσβίωσης σε άλλες ασθένειες που σχετίζονται με το MetS όπως ο διαβήτης τύπου 2, η NAFLD και η αθηροσκλήρωση [80]. Πέρα από μια περιγραφή της σύνθεσης της βακτηριακής κοινότητας και της συσχετιζόμενης ασθένειας, η έρευνα του μικροβιώματος κινείται προς την διευκρίνιση των ενεργοποιημένων μοριακών οδών και των μικροβιακών μεταβολιτών καθώς και τον χαρακτηρισμό των επιδράσεών τους στις σχετικές με το MetS εκδηλώσεις στον ξενιστή.

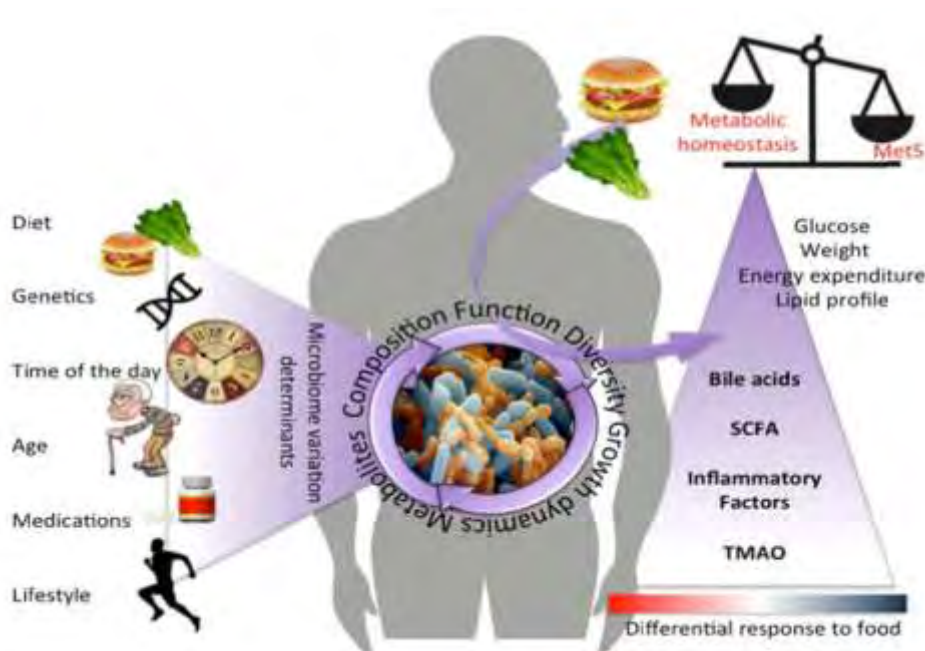
Αυτές οι μελέτες εκτελούνται μέσω ενός συνδυασμού next-generation sequencing, τεχνικών μεταβολομικής [75] και πειραματισμών σε μοντέλα ποντικού. Μαζί, αποσκοπούν στην αναγνώριση των κοινοτήτων των βακτηρίων και των αλλαγών στο επίπεδο των μικροβιακών ειδών του ξενιστή, των γονιδίων, των μεταγραφών και των μεταβολιτών. Αυτές οι αναλύσεις μπορούν να βοηθήσουν στην ανάπτυξη, τα επόμενα χρόνια, νέας ακριβέστερης προσέγγισης για τη διάγνωση και τη θεραπεία παθολογιών που σχετίζονται με το MetS. [81]

2.2.3 Μεταβολικές συνέπειες των παραλλαγών μεταξύ των ατόμων στο μικροβίωμα

Το μικροβίωμα του εντέρου χαρακτηρίζεται από μεγάλη μεταξύ των ατόμων μεταβλητότητα στη σύνθεση, τη λειτουργία και την αλληλεπίδραση με τον ξενιστή, δηλαδή μπορεί να θεωρηθεί ως προσωπικό χαρακτηριστικό που συμβάλλει στην ατομική ευαισθησία για την ανάπτυξη διακριτών επιπλοκών του MetS. Σε περιορισμένο αριθμό μελετών, η σύνθεση και η λειτουργία του μικροβιώματος θεωρήθηκαν ως ένας σημαντικός παράγοντας, με θετικές συσχετίσεις ενώ μεταξύ των διαφορετικών μελών παρατηρήθηκαν ανεπαρκείς γλυκαιμικές αποκρίσεις.

Επιπρόσθετη υποστήριξη όσον αφορά τη σημασία του μικροβιώματος για την ομοιοστασία της γλυκόζης μπορεί να βρεθεί στη μελέτη του Kovatcheva-Datchary et al όπου παρατηρήθηκε βελτίωση της γλυκαιμικής απόκρισης μετά την κατανάλωση αρτοποιήσιμου ψωμιού barley-kernel (BKB) σε άτομα με υψηλά επίπεδα του γένους *Prevotella* [82]. Η σημασία του μικροβιώματος στη διαμεσολάβηση των ευεργετικών αποτελεσμάτων του BKB αποδείχθηκε αξιολογώντας την ανοχή γλυκόζης σε ποντίκια χωρίς μικροβίωμα (GF) στα οποία μεταμόσχευσαν μικροβίωμα από ανθρώπους που κατανάλωσαν BKB ή μικροβίωμα με *Prevotella copri*. Λειτουργική ανάλυση του μικροβιώματος έδειξε ότι η *Prevotella* μπορεί να ασκεί τα ευεργετικά της αποτελέσματα συμβάλλοντας στη διευκόλυνση του μεταβολισμού των ενζύμων που σχετίζονται με τις διαιτητικές ίνες στο ψωμί και στην αύξηση της αποθήκευσης του γλυκογόνου [82].

Ορισμένες μικροβιακές συνθέσεις μπορεί να ασκήσουν εξατομικευμένες αρνητικές επιπτώσεις στον ξενιστή τους ως απάντηση σε διαιτητικά ερεθίσματα. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η κατανάλωση χωρίς θερμίδες τεχνητών γλυκαντικών (NAS), που οδηγούν σε διαταραγμένη σύνθεση του μικροβιώματος ,προωθώντας έτσι το MetS σε αρκετές μελέτες σε ποντικούς [83]. Μερικές από αυτές τις διαταραχές στη σύνθεση και λειτουργία του μικροβιώματος είχε αιτιολογικό ρόλο στην εμφάνιση των διαταραχών στο μεταβολισμό [83], και στους ανθρώπους η ικανότητα των NAS να προάγει τη δυσανεξία στη γλυκόζη επηρεάζεται από το μικροβίωμα του ξενιστή.Τεκμηρίωση αυτών των ευρημάτων σε μεγαλύτερες ανθρώπινες μελέτες ενδέχεται να βοηθήσει να προσδιοριστεί ποιο άτομο θα μπορούσε να ωφεληθεί από τα NAS, αλλά και όσους πρέπει να την αποφύγουν.



Εικόνα 1.6 Οι μεταβολές στο μικροβίωμα προκαλούν διαφορετικές επιδράσεις στο περιβάλλον της μεταβολικής ομοιόστασης. Ποικίλοι γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες συμβάλλουν στις παραλλαγές του μικροβιώματος από άτομο σε άτομο. Elinav et al Diabet 2016 [87]

2.2.4.Μηχανισμοί που εμπλέκονται στις επιδράσεις του εντερικού μικροβιώματος στο MetS

Παρά τις πολλές συσχετίσεις που ενέχουν μικροοργανισμούς του εντέρου που εμπλέκονται σε ολόκληρο το σώμα οι μεταβολικές αντιδράσεις και οι νοσηρότητες που σχετίζονται με το MetS, οι βασικοί μηχανισμοί είναι εξαιρετικά περίπλοκοι .Δεδομένα δείχνουν ότι η φλεγμονή και οι μεταβολίτες που προέρχονται από μικροβιακούς παράγοντες, όπως λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας και χολικά οξέα, μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά τις διαταραχές που σχετίζονται με το MetS και την πρόοδο της νόσου.

2.2.5.Μεταβολίτες που προέρχονται από μικροβίωμα

Οι μεταβολίτες που παράγονται, αποδομούνται ή διαμορφώνονται από το μικροβίωμα, χρησιμεύουν ως «κανάλια επικοινωνίας» μεταξύ του ξενιστή και του μικροβιώματος [84]. Οι βέλτιστα μελετημένοι μεταβολίτες περιλαμβάνουν τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας, τα χολικά οξέα και τις τριμεθυλαμίνες, υπάρχουν και πολλοί άλλοι μεταβολίτες οι οποίοι δεν έχουν μελετηθεί όμως μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά το μεταβολισμό του ξενιστή.

2.2.5.1.Λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας

Τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας (SCFA), συμπεριλαμβανομένων των οξικών, προπιονικών και βουτυρικών παράγεται από βακτηριακή ζύμωση πολυσακχαριτών στο γαστρεντερικό σωλήνα[85]. Τα SCFA μπορεί να διαδραματίσουν κάποιο ρόλο στη διατήρηση του βάρους του σώματος, στην εντερική ομοιόσταση και στη βελτίωση του μεταβολισμού των λιπιδίων και της γλυκόζης [86]. Στις περισσότερες μελέτες σε ζώα, η διατροφική συμπλήρωση με SCFA μείωσε την αύξηση βάρους και τα τριγλυκερίδια, βελτίωσε την ευαισθησία στην ινσουλίνη [86]. Η χορήγηση προπιονικού οξέος σε υπέρβαρα άτομα μειώνει την πρόσληψη βάρους, το κοιλιακό λίπος ,το λιπώδες ήπαρ αλλά και την αντίσταση στην ινσουλίνη ,ενώ αυξάνεται σημαντικά η μεταγευματική έκκριση PYY και GLP1.[87]

Τα SCFA είναι προσδέτες για τους συζευγμένους με G-πρωτεΐνη υποδοχείς GPR41, GPR43 και GPR109a που εκφράζονται στο επιθήλιο του παχέος εντέρου, σε β-παγκρεατικά κύτταρα και στο λιπώδη ιστό . Τα ποντίκια που δεν είχαν GPR41 ήταν πιο αδύνατα με μειωμένη έκφραση της γαστρικής ινκρετίνης PYY .Το οξικό και το προπιονικό είναι ισχυροί προσδέτες για GPR43 και οι ποντικοί με έλλειμμα -GPR43- που τράφηκαν με δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά (HFD) απόκτησαν περισσότερο βάρος με αυξημένες τις MetS-επιπλοκές [88]. Τα αντιβιοτικά ή οι συνθήκες χωρίς μικρόβια GF καταργούν τους μεταβολικούς φαινότυπους των ποντικών GPR41 και GPR43, υποδηλώνοντας ότι τα βακτηριακά SCFA επάγουν την ενεργοποίηση των GPR43 και GPR41 που ελέγχουν την ενέργεια ολόκληρου του σώματος και την ομοιόσταση της γλυκόζης [88].

Η απόκριση του ξενιστή στα SCFA μπορεί επίσης να μεσολαβήσει μέσω της ανίχνευσης της γλυκόζης από τον άξονα του εντέρου και του εγκεφάλου. Η ανίχνευση προπιονικού οξέος στο κόλον προκαλεί εντερική γλυκονογένεση, οδηγώντας σε βελτιωμένη ρύθμιση της γλυκόζης και του βάρους. Perry et al. [89] έχουν διαπιστώσει ότι οι αρουραίοι με HFD είχαν αυξημένη ενσωμάτωση οξικού οξέος στο κόλον και η χρόνια χορήγηση οξικού οξέος προκάλεσε επιπλοκές του MetS που σχετίζονται με την παχυσαρκία και οδήγησε σε παρασυμπαθητική διεγερτική έκκριση ινσουλίνης β-κυττάρων[89].Ωστόσο είναι αναγκαίες μεγαλύτερες μελέτες για τον άνθρωπο για να αποσαφηνιστεί ο ρόλος των SCFA ως καινοτομία εξατομικευμένης ή γενικευμένης θεραπείας του μεταβολικού συνδρόμου.

2.2.5.2.Χολικά οξέα

Τα χολικά οξέα παράγονται κυρίως από τον καταβολισμό της ηπατικής χοληστερόλης, μεταφέρονται στην χοληδόχο κύστη και στον εντερικό αυλό με περισταλτισμό.Το μικροβίωμα που σχετίζεται με το περιφερικό λεπτό έντερο και το κόλον μπορεί να μετασχηματίζει πρωτογενή χολικά οξέα σε δευτερογενή χολικά οξέα [90].

Οι περισσότερες από τις φυσιολογικές επιδράσεις των χολικών οξέων προκαλούνται από τον συζευγμένο με πρωτεΐνη G υποδοχέα TGR5 και του φαρνεοειδούς πυρηνικού υποδοχέα (FXR). Ο FXR είναι ένας παράγοντας μεταγραφής που ελέγχει την ενδογενή σύνθεση και την απελευθέρωση χολικών οξέων και η ενεργοποίηση του FXR έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της βιοσύνθεσης των ηπατικών χολικών οξέων [91]. Οι παχύσαρκοι και οι ανθεκτικοί στην ινσουλίνη ποντικοί εμφάνισαν ελαττωμένη ποικιλομορφία στο εντερικό μικροβίωμα, συνοδευόμενο από μείωση των δευτερογενών χολικών οξέων και ηπατικών ενζύμων που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση χολικών οξέων, με αυξημένο FXR και μειωμένη έκφραση TGR5 [92]. Ενεργοποίηση του TGR5 από χολικά οξέα οδήγησε σε βελτιωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη, ενώ η δέσμευση των χολικών οξέων στο FXR είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της χοληστερόλης και την μείωση των τριγλυκεριδίων του ήπατος και του ορού [93].

Τα πειράματα σε GF και σε ποντίκια που έλαβαν αντιβιοτικά υποδηλώνουν ότι το μικροβίωμα μπορούν να διαμορφώνουν τον FXR, αλλά και γονίδια που σχετίζονται με FXR τα οποία ελέγχουν τη σύνθεση χολικού οξέος [94]. Ποντικοί με έλλειμμα εντερικού FXR που τράφηκαν με HFD έδειξαν μειωμένη πρόσληψη βάρους, δυσανεξία στη γλυκόζη και ανθεκτικότητα στην ινσουλίνη και προστατεύονται από την ανάπτυξη λίπους στο ήπαρ [95]. Αποκλεισμός του εντερικού FXR με χορήγηση FXR ανταγωνιστή προήγαγε φαιό λίπος, μειωμένη παχυσαρκία και αντίσταση στην ινσουλίνη [96]. Όλες αυτές οι μελέτες με ζώα υποδεικνύουν έναν κυρίαρχο ρόλο για το εντερικό μικροβίωμα στη ρύθμιση των χολικών οξέων, της πολυμορφίας και της σηματοδότησης FXR και ρυθμίζουν τις επιπλοκές του MetS.

2.2.5.3 Τριμεθυλαμίνες

Η τριμεθυλαμίνη (TMA) είναι ένας μεταβολίτης που παράγεται μεταβολισμό της L-καρνιτίνης (υπάρχει στο κόκκινο κρέας) και από μετατροπή της φωσφατιδυλοχολίνης (υπάρχει σε τυρί και αυγά). Η TMA μεταφέρεται στο ήπαρ μέσω πυλαίας κυκλοφορίας όπου μετατρέπεται μέσω

φλαβονομονοοξυγενασών (FMO) σε N-οξειδίο TMA (TMAO), ένα προ-αθηρογόνο που σχετίζεται με ανάπτυξη στεφανιαίας νόσου [97] και θρόμβωση σε ποντίκια και ανθρώπους.

Οι ποντικοί που υποβλήθηκαν σε αγωγή με αντιβιοτικά ή GF ποντίκια είχαν μη ανιχνεύσιμα επίπεδα TMA και TMAO [98], ενώ οι συμβατικοί ποντικοί εμφάνισαν αυξημένα επίπεδα TMAO, υποδεικνύοντας έναν υποχρεωτικό ρόλο της μικροχλωρίδας στην παραγωγή TMAO. Αντίστοιχα, οι ποντικοί που υποβλήθηκαν σε αγωγή με αντιβιοτικά ή GF ποντίκια που είχαν τροφοδοτηθεί με δίαιτες L-καρνιτίνης ή φωσφατιδυλοχολίνης είχαν λιγότερες αθηροσκληρωτικές βλάβες, μειωμένη συσσώρευση αφρωδών κυττάρων και μικρότερη υπερδραστηριότητα στα αιμοπετάλια [98]. Ένας βασικός ρόλος για το εντερικό μικροβίωμα στη δημιουργία του TMAO επιβεβαιώθηκε περαιτέρω σε ανθρώπους που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με L-καρνιτίνη ή φωσφατιδυλοχολίνη και τα αντιβιοτικά παρουσιάζουν σχεδόν πλήρη καταστολή της TMAO [98]. Οι πιθανώς κλινικά σημαντικοί άμεσοι ρόλοι του TMAO στην ανάπτυξη και στην εξέλιξη των καρδιαγγειακών παθήσεων αξίζει περαιτέρω προοπτικές μελέτες.

2.3.Μικροβιοτική ρύθμιση της φλεγμονής

Η παχυσαρκία, η αντίσταση στην ινσουλίνη, η αθηροσκλήρωση, η στεατοηπατίτιδα είναι όλα διαταραχές του MetS που σχετίζονται με τη φλεγμονή. Η φλεγμονή των λιπωδών ιστών είναι ως επί το πλείστον μελετημένη στα πλαίσια της παχυσαρκίας και του διαβήτη τύπου II, όπου συμβάλλει στην παθογένεση της ασθένειας και περιλαμβάνει τόσο τις έμφυτες όσο και τις προσαρμοστικές ανοσολογικές αντιδράσεις [99]. Ενώ οι μικροβιακές ενδοτοξίνες (όπως λιποπολυσακχαρίτες, LPS) ανιχνεύθηκαν στον τύπο 2 διαβήτη και σε παχύσαρκους και ανθεκτικούς στην ινσουλίνη ποντικούς που οδήγησαν σε αύξηση στη λιπώδη και συστηματική φλεγμονή [100], ο ρόλος της φλεγμονής του λιπώδους ιστού στις επιπλοκές του MetS παρέμεινε αντικρουόμενη [101].

Η διατροφή μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό των επιδράσεων του εντερικού μικροβιώματος στη φλεγμονή που σχετίζεται με το MetS. Τα ποντίκια που τρέφονται με λαρδί επάγουν σηματοδότηση του

λιπιδικού υποδοχέα (TLR) και φλεγμονή με αυξημένο LPS ορού και λιπαρότητα. Το μεταβολικό αποτέλεσμα ήταν μεταβιβάσιμο σε ποντίκια GF. Ο μεταβολικός φαινότυπος των ποντικών στα οποία δεν χορηγήθηκε λαρδί αλλά ιχθυέλαιο αντισταθμίστηκε ,υποδεικνύοντας ότι η δίαιτα παίζει σημαντικό ρόλο στη μικροβιακή σύνθεση, η οποία με τη σειρά της ρυθμίζει τη φλεγμονή και τη λιπαρότητα [102] του λιπώδους ιστού.

Προτάθηκε επίσης ένας βασικός σύνδεσμος μεταξύ της εντερικής φλεγμονής, των μικροβιακών αλλοιώσεων του εντέρου και της NAFLD [102]. Σε μελέτη, τα ποντίκια με έλλειψη στη σηματοδότηση του φλεγμονωσώματος εμφάνισαν μεταβολές στη σύνθεσή των εντερικών μικροβιωμάτων που ευθύνονται για την ηπατική στεάτωση, οδηγούμενη από μαζική εισροή στην πύλη κυκλοφορίας των αγωνιστών TLR4 και TLR9, οδηγώντας τελικά σε αυξημένη έκκριση ηπατικού TNFα και ηπατική βλάβη και φλεγμονή. Τα μεταβολικά αποτελέσματα ήταν μεταβιβάσιμα με συστέγαση, υποδηλώνοντας μια σημαντική αλληλοεπικάλυψη μεταξύ μικροβίων εντέρου και ξενιστών στην εξέλιξη της NAFLD. Μια άλλη μελέτη [103] δείχνει ότι η ταυρίνη του χολικού οξέος ελέγχει τη σύνθεση του μικροβιώματος που οδηγεί στην ενεργοποίηση του φλεγμονωσώματος NLRP6. Ποντίκια που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ταυρίνη εμφάνισαν βελτίωση της κολίτιδας και το αποτέλεσμα εξαρτιόταν από το μικροβίωμα και την ενεργοποίηση του φλεγμονωσώματος [103]. Η επίδραση της ταυρίνης στις μεταβολικές επιπλοκές πρέπει να καθοριστεί.

2.4. Εντερικό μικροβίωμα και αθηροσκλήρωση

Η αθηροσκληρωτική αγγειακή νόσος είναι ένας σύνθετος παθολογικός φαινότυπος που προκαλείται από το γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως τα τρόφιμα και τα συναφή μικρόβια.

Οι Wang et al. ανέφεραν ότι τρία μόρια που σχετίζονται με τα φωσφολιπίδια: τη χολίνη, τη βεταΐνη και το N-οξειδίο τριμεθυλαμίνης (TMAO) στο πλάσμα τα οποία φαίνεται να προάγουν την αθηροσκλήρωση και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για την πρόβλεψη του κινδύνου καρδιαγγειακών ασθενειών [104]. Αυτά τα τρία μόρια που σχετίζονται με φωσφολιπίδια ταυτοποιήθηκαν με ανάλυση μεταβολιτών του πλάσματος από 50 ασθενείς με αθηροσκληρωτική νόσο όπου χρησιμοποιήθηκε LC / MS (υγρή χρωματογραφία /σπεκτρομετρία μάζας) σε σύγκριση με 50 υγιή δείγματα.

Οι Wang et al. χρησιμοποίησαν ποντίκια με έλλειψη apoE ως μοντέλο αθηροσκλήρωσης και έδειξαν ότι τα επίπεδα TMAO πλάσματος σε apoE-ελλειμματικά ποντίκια συσχετίζονται θετικά με την περιοχή της αορτικής βλάβης. Το επίπεδο έκφρασης των ηπατικών μονοοξυγενασών της φλαβίνης ,οι οποίες μετατρέπουν την τριμεθυλαμίνη (TMA) σε TMAO, συσχετίζεται θετικά με τα επίπεδα TMAO πλάσματος τόσο σε ποντικούς όσο και στον άνθρωπο.

Η χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής σε ποντικούς με έλλειψη apoE μείωσε σημαντικά το επίπεδο TMAO πλάσματος και το μέγεθος της αθηρωμάτωσης, υποδηλώνοντας ότι τα μικρόβια του εντέρου επηρεάζουν σημαντικά την ανάπτυξη της αθηρωμάτωσης στα apoE-ελλειμματικά ποντίκια. Αυτό αποδείχθηκε προσθέτοντας 1% χολίνη στις δίαιτες ποντικών που έχουν έλλειψη apoE, καθώς αυξήθηκε ο σχηματισμός αφρώδων κυττάρων (foam cells) αλλά και η έκφραση των υποδοχέων σαρωτών CD36 και SRA1 σε μακροφάγα, γεγονός που φυσιολογικά εμποδίζεται από τη χορήγηση αντιβιοτικών ευρέως φάσματος.[104]

Έχει βρεθεί ένα νέο μονοπάτι που συνδέει την διατροφική πρόσληψη λιπιδίων, το εντερικό μικροβίωμα και την αθηροσκλήρωση.

Η διαιτητική L –καρνιτίνη μεταβολίζεται σε TMA από μικρόβια του εντέρου και μετατρέπεται περαιτέρω σε TMAO στο ήπαρ, γεγονός που επιταχύνει την αθηροσκλήρωση σε ποντικούς [105]. Η 16S rRNA αλληλούχιση του τυφλού, στα ποντίκια που τρέφονται με διατροφή που έχει συμπληρωθεί με L-καρνιτίνη ,έδειξε ότι η οικογένεια **Prevotellaceae** και το γένος **Prevotella** ήταν αυξημένα και υπήρχε θετικά συσχέτιση με το επίπεδο TMA πλάσματος.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι συγκεντρώσεις TMAO πλάσματος σε παμφάγα ήταν σημαντικά υψηλότερες από ό, τι στους vegans / χορτοφάγους. Η ανάλυση συσχέτισης της σύνθεσης των μικροβίων και των κοπράνων, αλλά και τα επίπεδα TMAO πλάσματος έδειξαν ότι η συγκέντρωση του πλάσματος TMAO στα άτομα με Enterotype του Prevotella ήταν σημαντικά υψηλότερη από ό, τι στα δείγματα με εντερότυπο Bacteroides .

Η κατάποση της L-καρνιτίνης από ανθρώπους που ήταν vegan / χορτοφάγοι ή παμφάγα έδειξε ότι τα παμφάγα άτομα παράγαν περισσότερη TMAO συγκριτικά με τους vegans / χορτοφάγους. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι οι διατροφικές συνήθειες μπορούν να διαμορφώσουν και τη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος και την ικανότητά του να μεταβολίζουν τη TMA και το TMAO από τη διατροφική L-καρνιτίνη.

Μεταγονιδιωματική ανάλυση του μικροβιώματος των κοπράνων επιπλέον αποκάλυψε ότι το γένος **Collinsella** αυξήθηκε σε ασθενείς με **συμπτωματική αθηροσκλήρωση**, ενώ τα γένη **Roseburia** και **Eubacterium** αυξήθηκαν σε υγιή δείγματα [105]. Περαιτέρω μεταγονιδιωματικός έλεγχος της λειτουργικής ικανότητας του μικροβιώματος στα κόπρανα αποκάλυψε ότι γονίδια που κωδικοποιούν τη σύνθεση πεπτιδογλυκάνης αυξήθηκαν , ενώ η φυτοενυδρογονάση μειώθηκε εντελώς σε ασθενείς με αθηροσκλήρωση. Οι ασθενείς είχαν μειωμένα επίπεδα β-καροτίνης στον ορό και έτσι υποδηλώνεται

ότι η φλεγμονώδης κατάσταση των συμπτωματικών ασθενών με αθηροσκλήρωση μπορεί να σχετίζεται με χαρακτηριστικές αλλαγές στο εντερικό μικροβίωμα.

Study	Aim	Number of participants	Design	Method	Main findings
Ley et al. (2006) [41]	To investigate the effect of either a carbohydrate- or fat-restricted diet on gut microbial ecology	14 adults; 12 obese, 2 lean	Randomized intervention	16S rRNA	<ul style="list-style-type: none"> Increased abundance of Firmicutes and reduced abundance of Bacteroidetes in obese Increased abundance of Bacteroidetes and decreased abundance of Firmicutes following 1 year of either fat- or carbohydrate-restricted low-calorie diet Increase in Bacteroidetes correlated with body weight reduction regardless of diet
Zhang et al. (2009) [161]	To investigate microbiota composition in morbid obesity and following RYGB	9 adults; 3 lean, 3 morbidly obese, 3 post RYGB	Cross-sectional	16S rRNA, qPCR	<ul style="list-style-type: none"> Firmicutes dominant in normal weight and obese, decreased in post RYGB Gamma-Proteobacteria increased whereas Clostridia decreased post-RYGB Prevotellaceae highly enriched in obese Methanobacteriales highly abundant in obese, while non-detectable in normal weight
Tumbaugh et al. (2009) [37]	To investigate the influence of host genotype, environmental exposure and host adiposity	154 adults; 31 MZ twin pairs, 23 DZ twin pairs, (concordant for obesity or leanness), 46 mothers	Cross-sectional	16S rRNA	<ul style="list-style-type: none"> Lower proportion of Bacteroidetes and a higher proportion of Actinobacteria in obese Obesity associated with reduced diversity Obese microbiome enriched for genes involved in macronutrient metabolism
Lansen et al. (2010) [12]	To investigate differences in gut microbiota composition associated with T2D	20 adults; 10 T2D, 10 NGT	Cross-sectional	16S rRNA, qPCR	<ul style="list-style-type: none"> Decreased diversity in T2D Firmicutes, including Clostridia, decreased in T2D The ratio of the phylogenetic groups Bacteroides-Prevotella to Clostridium coccoides-Eubacterium rectale and the Bacteroidetes to Firmicutes ratio correlated positively with 2 h p-glucose during an OGTT Beta-Proteobacteria highly enriched in T2D and correlated with 2 hour p-glucose during an OGTT
Jumpertz et al. (2011) [5]	To investigate the effect of caloric intake on microbiota composition in lean and obese	21 adults; 12 lean, 9 obese	Randomized cross-over intervention	16S rRNA	<ul style="list-style-type: none"> High-calorie diet changes the relative abundance of microbiota on the phylum (Bacteroidetes versus Firmicutes), class (Bacteroidetes versus Clostridia), and order level (Bacteroidales versus Clostridiales)

Πίνακας 1.2α Human metagenomic studies of the gut microbiome and cardio-metabolic traits Hansen et al. Genome Medicine (2015) 7:33[105]

Koren et al. (2011) [59]	To investigate the bacterial diversity of atherosclerotic plaque, oral cavity and gut in patients with CVD	30 adults; 15 CVD, 15 healthy	Cross-sectional	16S rRNA, qPCR	<ul style="list-style-type: none"> - Phylum-, class-, and order-level changes in microbiota composition during intervention associated with fecal caloric content in lean but not in obese - No phylum- or genus-level compositional difference between CVD patients and healthy controls - Several shared OTUs between atherosclerotic plaque and fecal samples
Karlsson et al. (2012) [60]	To investigate the microbiota composition in patients with CVD	25 adults; 13 CVD, 12 healthy controls	Cross-sectional	Quantitative metagenomics	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Collinsella</i> enriched in patients; <i>Subdoligranulum</i> and <i>Roseburia</i> enriched in controls - Genes of Clostridiales, Clostridium and Peptostreptococcus negatively correlated with hsCRP - Atherosclerosis associated with the Ruminococcus enterotype
Qin et al. (2012) [13]	To investigate differences in gut microbiota composition and function associated with T2D	368 adults; 183 T2D cases, 185 healthy controls	Cross-sectional	Quantitative metagenomics	<ul style="list-style-type: none"> - T2D associated with moderate dysbiosis with a decline in butyrate-producing bacteria - Gut-microbiome-based T2D index accurately classifies T2D individuals
Le Chatelier et al. (2013) [55]	To investigate the bacterial abundance in lean and obese	292 adults; 123 lean, 169 obese	Cross-sectional/ retrospective	Quantitative metagenomics and 16S rRNA	<ul style="list-style-type: none"> - Low bacterial richness associates with increased overall adiposity, insulin resistance, dyslipidemia, and a more pronounced inflammatory phenotype - Discrimination between high versus low gene count and obesity status possible from a combination of only four species with ROC analysis AUC of 0.97 - Increased weight gain in individuals with low microbial gene count
Karlsson et al. (2013) [16]	To investigate differences in gut microbiota composition and function associated with T2D	145 adults; 53 T2D, 49 IGT, 43 NGT	Cross-sectional	Quantitative metagenomics	<ul style="list-style-type: none"> - Increased abundance of <i>Lactobacillus</i> spp. and abundance of <i>Clostridium</i> spp. decreased - <i>Clostridium</i> spp. correlated with fasting glucose and HbA1c, whereas <i>Lactobacillus</i> spp. correlated negatively with fasting glucose, insulin, C-peptide and TAG, and positively with adiponectin and HDL

Πίνακας 1.2β Human metagenomic studies of the gut microbiome and cardio-metabolic traits Hansen et al. *Genome Medicine* (2015) 7:33[105]

Zhang et al. (2013) [17]	To investigate differences in gut microbiota composition associated with T2D	121 adults; 44 NGT, 64 IGT, 13 T2D	Cross-sectional	16S rRNA	<ul style="list-style-type: none"> • Microbiota composition as determined by metagenomic clusters better correlated with T2D than known clinical risk factors (WC, WHR and BMI) • Higher abundance of Clostridia in T2D • Negative trend of abundance of Streptococcus from NGT to IGT to T2D • Enterotype classification not associated with glucose tolerance status • 28 OTUs associated with glucose tolerance status • Fasting glucose associated with microbiota composition • Fasting insulin inversely associated with alpha (intra-individual) diversity
Kong et al. (2013) [16]	To investigate the impact of RYGB on microbiota composition	30 adults; 7 T2D, 23 non-T2D obese	Non-randomized intervention	16S rRNA	<ul style="list-style-type: none"> • Increased bacterial richness following RYGB, mainly within the phylum Proteobacteria • RYGB induced genus-level changes in microbiota composition correlated with changes in white adipose tissue gene expression
Graessler et al. (2013) [14]	To investigate the impact of RYGB on microbiota composition and function	6 adults; 5 T2D, 1 non-T2D obese	Non-randomized intervention	Quantitative metagenomics	<ul style="list-style-type: none"> • Relative abundance of 22 species and 11 genera affected 3 months after RYGB • Overall, RYGB induced phylum-level changes characterized by reduction in Bacteroidetes and Firmicutes and an increase in Proteobacteria and Verrucomicrobia • Species-level changes dominated by an increase in <i>A. muciniphila</i>, <i>E. coli</i> and <i>K. pneumoniae</i> and a decrease in <i>F. prausnitzii</i>, <i>E. rectale</i> and <i>D. invisus</i>.

Abbreviations: AUC area under the curve, BMI body mass index, CVD cardiovascular disease, DZ dietary, HDL high-density lipoprotein, hsCRP high-sensitivity C-reactive protein, IGT impaired glucose tolerance, MZ monozygotic, NGT normal glucose tolerance, OGTT oral glucose tolerance test, OTU operational taxonomic unit, qPCR quantitative PCR, ROC receiver operating characteristic, RYGB Roux-en-Y gastric bypass, TAG triacylglyceride, T2D type 2 diabetes, WC waist circumference, WHR waist-hip ratio.

Πίνακας 1.2γ Human metagenomic studies of the gut microbiome and cardio-metabolic traits Hansen et al. Genome Medicine (2015) 7:33[105]

2.5. Εντερικό μικροβίωμα & σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 (ΣΔ1)

Ο ακριβής ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στην παθογένεια του σακχαρώδους διαβήτη 1 παραμένει ακόμα άγνωστος. Δεδομένα από πειραματικά μοντέλα υποστηρίζουν την ιδέα ότι κάποιες οικογένειες βακτηρίων ενδέχεται να λειτουργούν προστατευτικά έναντι του ΣΔ1. Μελέτες έδειξαν ότι η χρήση αντιβιοτικών σε πειραματόζωα μπορεί να εμποδίσει την εμφάνιση ΣΔ τύπου 1. [106] Αλλά και η χορήγηση προβιοτικών με βακτηριακά στελέχη σε πειραματόζωα εμπόδισε την εμφάνιση ή καθυστέρησε την εξέλιξη της νόσου. [107]

Σε άλλη μελέτη, βρέθηκε ότι η τυχαία μόλυνση ποντικών με σπορογόνο βακτήριο είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της συχνότητας εμφάνισης ΣΔ τύπου 1. [108] Όμοια, η επώαση μυκοβακτηρίου και στρεπτοκόκκων σε πειραματόζωα τα προστατεύει από την εμφάνιση διαβήτη.

Μελέτες του εντερικού μικροβιώματος σε ποντικούς που ανέπτυξαν ΣΔ τύπου 1 και ποντικούς που δεν ανέπτυξαν διαβήτη αναφέρουν ότι, κατά την έναρξη της νόσου, οι δύο ομάδες παρουσίαζαν διαφορές όσον αφορά τις συγκεντρώσεις και το είδος των μικροβίων. [109] Ειδικότερα, δείγματα κοπράνων από ποντικούς που ανέπτυξαν διαβήτη περιείχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις από τα λεγόμενα προβιοτικά βακτήρια, όπως *Lactobacillus* και *Bifidobacterium*, σε αντίθεση με τους ποντικούς που δεν ανέπτυξαν διαβήτη που εμφάνισαν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε *Bacteroides*, *Eubacterium* και *Ruminococcus*. Αξίζει να αναφερθεί ότι το στέλεχος *Lactobacillus johnsonii* προλαμβάνει την ανάπτυξη διαβήτη όταν χορηγείται σε ποντικούς. [110]

Λόγω της πιθανής σχέσης μεταξύ του μικροβιώματος και της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, η πλειοψηφία των ερευνών στον τομέα του εντερικού μικροβιώματος έχει γίνει σε ασθενείς με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, ενώ αντίθετα οι μελέτες σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 1 είναι περιορισμένες.

Εκτός από την αυξημένη εντερική διαπερατότητα, ασθενείς με ΣΔ τύπου 1 εμφανίζουν αύξηση των φλεγμονωδών κυττάρων στο έντερο και μειωμένο αριθμό CD4, CD25 και T-κυττάρων, που αποτελούν τον κύριο ρυθμιστή του ανοσοποιητικού συστήματος.[111]

Άλλη μελέτη έδειξε ότι άτομα που ανέπτυξαν ΣΔ1 παρουσίαζαν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε Bacteroidetes και χαμηλότερες σε Firmicutes έναντι υγιών μαρτύρων. Επιπλέον, στα άτομα που εμφάνισαν ΣΔ1 παρατηρήθηκε αποικισμός με μικρότερο αριθμό βακτηρίων έναντι των υγιών μαρτύρων.

Study group	Methodology	Microbiota change*		Reference
		Phylum or class	Genus or species	
Autoimmune children (positive in at least two autoantibodies) vs. healthy children (n = 4 vs. n = 4)	Shotgun sequencing	↑Actinobacteria	↑ <i>Bifidobacterium</i>	51
		↑Bacteroidetes	↑ <i>Bacteroides</i>	
		↑Proteobacteria	↑ <i>Lactobacillus</i>	
		↓Firmicutes	↑ <i>Lactococcus</i>	
		↓Fusobacteria	↑ <i>Streptococcus</i>	
		↓Tenericutes	↑ <i>Veillonella</i>	
		↓Verrucomicrobia	↑ <i>Alistipes</i>	
			↓ <i>Prevotella</i>	
			↓ <i>Akkermansia</i>	
			↓ <i>Eubacterium</i>	
			↓ <i>Fusobacterium</i>	
			↓ <i>Anaerostipes</i>	
			↓ <i>Roseburia</i>	
	↓ <i>Subdoligranulum</i>			
	↓ <i>Faecalibacterium</i>			
Autoimmune children (positive in at least two autoantibodies) vs. healthy children (n = 4 vs. n = 4)	16S rDNA sequencing	↑Bacteroidetes	↑ <i>Bacteroides</i>	52
			↑ <i>Bacteroides ovatus</i>	
		↓Firmicutes	↓ <i>Eubacterium</i>	
			↓ <i>Faecalibacterium</i>	
		↓Clostridia	↓ <i>Bacteroides vulgatus</i>	
	↓ <i>Bacteroides fragilis</i>			
Children with T1D vs. healthy children (n = 16 vs. n = 16)	Real-time PCR	↑Bacteroidetes	↑ <i>Bacteroides</i>	53
			↑ <i>Veillonella</i>	
			↑ <i>Clostridium</i>	
		↓Firmicutes	↓ <i>Prevotella</i>	
			↓ <i>Lactobacillus</i>	
		↓Actinobacteria	↓ <i>Bifidobacterium</i>	
			↓ <i>Blastia coxoides</i> – <i>Eubacterium rectale</i>	
Children with T1D vs. healthy children (n = 35 vs. n = 35)	Plate counting		↑ <i>Candida albicans</i>	54
			↑Enterobacteriaceae other than <i>Escherichia coli</i>	
			↓ <i>Bifidobacterium</i>	

Πίνακας 1.3 Sanz et al Pediatric ReseARCH, 2015 . Changes in the intestinal microbiota associated with type-1 diabetes (T1D) in humans [110]

2.6. Εντερικό μικροβίωμα & σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔ 2)

Η εκδήλωση του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 οφείλεται στο συνδυασμό της μειωμένης έκκρισης ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος και της αυξημένης αντίστασης στην ινσουλίνη, καθώς και στη διαταραχή της έκκρισης ινκρετινών από το γαστρεντερικό σύστημα. Κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμα της παχυσαρκίας και του ΣΔ 2 είναι η παρουσία χαμηλού βαθμού φλεγμονής που εμφανίζεται σε ιστούς που συμμετέχουν στη ρύθμιση του μεταβολισμού, όπως είναι το ήπαρ, ο λιπώδης ιστός και οι μύες. Η φλεγμονή χαρακτηρίζεται από αύξηση των κυτοκινών, ιντερλευκίνη (IL)-6, IL-1 και TNF-α με τελικό αποτέλεσμα την αντίσταση στην ινσουλίνη. [112]

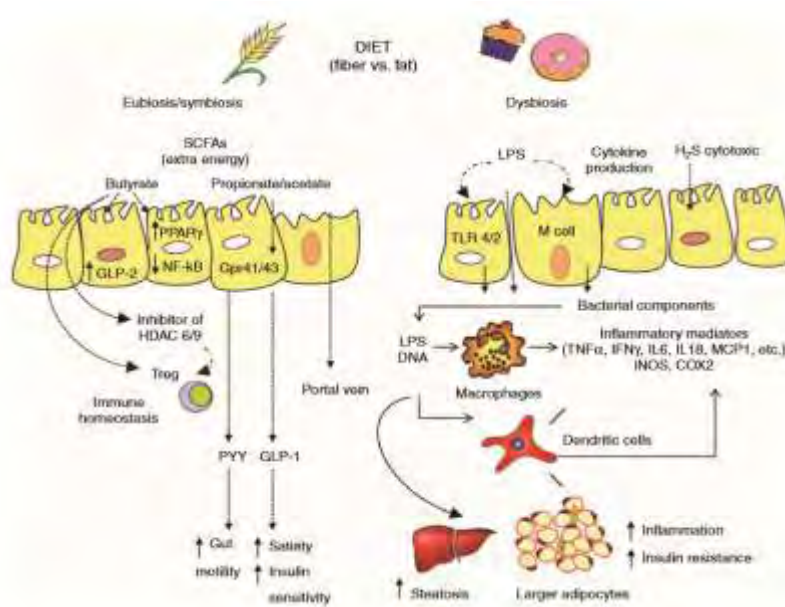
Υπάρχουν αρκετές μελέτες στις οποίες έχει συσχετισθεί το εντερικό μικροβίωμα με την παρουσία παχυσαρκίας, αντίστασης στην ινσουλίνη και ΣΔ 2, όπως, και ότι η θεραπεία με προβιοτικά επηρεάζει τον μεταβολικό έλεγχο των ασθενών με ΣΔ 2. Το εντερικό μικροβίωμα συμβάλλει στην ανάπτυξη ΣΔ 2. Και οι δύο μελέτες έδειξαν ότι τα άτομα με ΣΔ 2 χαρακτηρίζονταν από μείωση των συγκεντρώσεων των βακτηρίων Clostridiales (είδη Roseburia και Faecali).[113]

Ο διαβήτης τύπου 2 ανεξάρτητα από την παχυσαρκία, μπορεί επίσης να επηρεάσει τη δομική σύνθεση της μικροχλωρίδας. Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 μπορεί να συσχετιστεί με την επικράτηση των αρνητικών κατά Gram χρώση βακτηριδίων στο έντερο, όπως τα βακτηριοειδή Bacteroidetes. Στην πραγματικότητα μείωση στο Bacteroides-Prevotella spp. έχει συσχετιστεί με βελτιωμένη μεταβολική ενδοτοξιναιμία και μειωμένους συστηματικούς φλεγμονώδεις δείκτες σε διαβητικούς ποντικούς. [113]

Αλλαγές στον αριθμό των Bifidobacterium, Lactobacillus, Clostridium καθώς και του λόγου Firmicutes/Bacteroidetes έχουν παρατηρηθεί και στο εντερικό μικροβίωμα παιδιών με ΣΔ 1.[114] Παρόμοιες μεταβολές στη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος έχουν αναφερθεί σε ασθενείς με ΣΔ 2.[115] Για την ερμηνεία της επίδρασης του εντερικού μικροβιώματος στην αντίσταση στην

ινσουλίνη και το ΣΔ2 έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί, με κυριότερους τη μεταβολική φλεγμονή, την τροποποίηση της έκκρισης των ινκρετινών και την παραγωγή του υδροξυβουτυρικού οξέος.

Οι λιποπολυσακχαρίτες είναι ενδοτοξίνες οι οποίες βρίσκονται συνήθως στην εξωτερική μεμβράνη των Gram αρνητικών βακτηρίων και προκαλούν τη λεγόμενη μεταβολική φλεγμονή, η οποία χαρακτηρίζεται από την απελευθέρωση μορίων που προάγουν τη φλεγμονή.[116] Ο ρόλος των λιποπολυσακχαριτών στην παθογένεια των μεταβολικών νοσημάτων αποδείχτηκε με μελέτη σε ποντίκια που έλαβαν φυσιολογική διατροφή, στα οποία η έγχυση των λιποπολυσακχαριτών προκάλεσε αντίσταση στην ινσουλίνη στο ήπαρ, δυσανεξία στη γλυκόζη, καθώς και αύξηση του λιπώδους ιστού.[117] Επιπλέον, οι λιποπολυσακχαρίτες ενδέχεται να προάγουν την έκφραση του NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) και την ενεργοποίηση των μεταβολικών οδών της MAP κινάσης (mitogen-activated protein kinase) στα λιποκύτταρα. (εικόνα 1.7)



Εικόνα 1.7 Κύριοι μηχανισμοί δράσης του μικροβιώματος και των μεταβολιτών που προέρχονται από την παχυσαρκία και των συναφών μεταβολικών δυσλειτουργιών (αντίσταση στην ινσουλίνη και διαβήτης τύπου 2). Το εντερικό μικροβίωμα συμβάλλει στην υδρόλυση του συμπλόκου πολυσακχαριτών από διαιτητικές ίνες, και ως εκ τούτου θα μπορούσε να συμβάλει στην αύξηση της εξοικονόμησης της ενέργειας και να παράγει λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας (SCFAs: Οξικό προπιονικό και βουτυρικό οξύ) που επηρεάζουν τον μεταβολισμό του ξενιστή με διάφορους τρόπους. Τα SCFAs μπορούν να ενεργοποιήσουν τον συζευγμένο με G πρωτεΐνη υποδοχέα (Gpr) 41 που επάγει την έκφραση του πεπτιδίου YY, μια εντερική ορμόνη που επηρεάζει την κινητικότητα του εντέρου, αυξάνει τον ρυθμό της εντερικής διέλευσης και μειώνει την εξοικονόμηση ενέργειας από τη διαίτα. Τα SCFAs μπορούν επίσης να ενεργοποιήσουν Gpr43 και Gpr41 που προκαλούν έκκριση πεπτιδίου-1 (GLP-1) τύπου γλυκαγόνου, αυξάνοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη και προκαλώντας κορεσμό. Το βουτυρικό οξύ παρέχει ενέργεια σε εντεροκύτταρα, ασκώντας επίδραση στην τροφή και προκαλώντας τη σύνθεση του GLP-2, ενισχύοντας έτσι τη λειτουργία του φραγμού του εντέρου. Το βουτυρικό οξύ μπορεί επίσης να προάγει το σχηματισμό των περιφερικών ρυθμιστικών T κυττάρων (Treg) από την ικανότητά του να αναστέλλει την αποακετυλίωση ιστονών 6 και 9 που οδηγεί σε ακετυλίωση της ιστόνης H3, η οποία προωθεί την έκφραση του Treg-ειδικού forkhead παράγοντα μεταγραφής FoxP3. Η εντερική δυσβίωση, η οποία θα μπορούσε να προκαλείται εν μέρει από «παχυσαρκογενές» δίαιτες που είναι πλούσιες σε κορεσμένα λίπη, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη των δυνητικών παθογόνων (Gram-αρνητικά βακτήρια και παράγωγα λιποπολυσακχαρίτη (LPS)) με προφλεγμονώδεις επιδράσεις μέσω δημιουργίας κυτταροτοξικών ενώσεων (H2S) ή στην αλληλεπίδραση με υποδοχείς του έμφυτου ανοσοποιητικού (TLR4, TLR2) συμβάλλοντας στην παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών, στην προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων και στην μετατόπιση των βακτηριακών προϊόντων (LPS, DNA) από διακυτταρικές και παρακυτταρικές οδούς που ενεργοποιούν τη φλεγμονή σε περιφερικούς ιστούς. NF, πυρηνικός παράγοντας. Sanz et al *Pediatric ReseARCH* 2015[117]

Μελέτη σε ποντίκια με έλλειψη λεπτίνης τα οποία τρέφονταν φυσιολογικά[118]έδειξε ότι η αυξημένη διαπερατότητα του εντέρου στους λιποπολυσακχαρίτες είχε ως αποτέλεσμα τη μεταβολή στην αναλογία των Gram αρνητικών βακτηρίων στον εντερικό αυλό,[118] η οποία συσχετίστηκε με την παρουσία αντίστασης στην ινσουλίνη.Η τροποποίηση του εντερικού

μικροβιώματος με τη χορήγηση θεραπείας με προβιοτικά σε παχύσαρκα ποντίκια λειτούργησε ευνοϊκά στον εντερικό φραγμό, μειώνοντας τη μεταβολική φλεγμονή που προκαλείται από τους λιποπολυσακχαρίτες.[117]

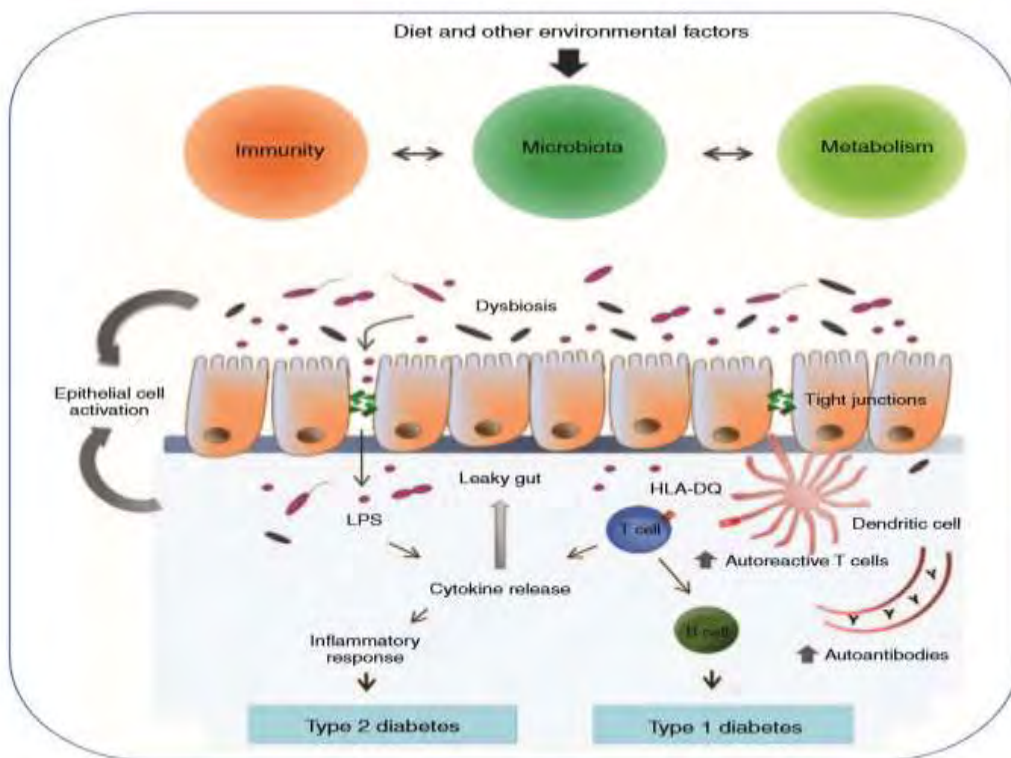
Έχει βρεθεί ότι η αύξηση των συγκεντρώσεων του *Bifidobacterium* τροποποιεί τη φλεγμονώδη αντίδραση σε παχύσαρκα ποντίκια μέσω της αύξησης της παραγωγής των προσομοιαζόντων με τη γλυκαγόνη πεπτιδίων (Glucagon Like Peptides, GLPs), μειώνοντας παράλληλα την εντερική διαπερατότητα.[118] Η αύξηση των συγκεντρώσεων του *Bifidobacterium* που προκαλείται από τη θεραπεία με προβιοτικά πιθανώς να συνδέεται με αύξηση των επιπέδων των πεπτιδίων GLP-1 και YY που εκκρίνονται από το έντερο και ασκούν ευνοϊκή δράση, μειώνοντας την αντίσταση στην ινσουλίνη και βελτιώνοντας τη λειτουργία των β-κυττάρων. [118]

Επιπλέον, η θεραπεία με προβιοτικά προκάλεσε αύξηση των επιπέδων του GLP-2 στο παχύ έντερο, βελτίωσε τη λειτουργία του εντερικού φραγμού με τελικό αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων των λιποπολυσακχαριτών στο πλάσμα.[118]

Σε μελέτη των Qin βρέθηκε ότι τα άτομα με ΣΔ 2 παρουσίαζαν αύξηση του αριθμού των διαφόρων ευκαιριακών παθογόνων του εντέρου και μείωση των συγκεντρώσεων των βακτηρίων που παράγουν υδροξυβουτυρικό οξύ.[119] Το υδροξυβουτυρικό οξύ αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας για τη διατήρηση της λειτουργίας των κυττάρων του πεπτικού συστήματος. Στο παχύ έντερο, το υδροξυβουτυρικό οξύ παράγεται κυρίως από τα βακτήρια *C.coccoides* και *Eubacterium rectale*. Ωστόσο αλλαγές στα εντερικά βακτήρια βρέθηκαν σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου και σε ηλικιωμένα άτομα γεγονός που αποδεικνύει ότι τα βακτήρια που παράγουν υδροξυβουτυρικό οξύ ενδεχομένως θα μπορούσαν να έχουν προστατευτικό ρόλο στη λειτουργία του εντερικού μικροβιώματος.[119]

Study group	Methodology	Microbiota change*		Reference
		Phylum or class	Genus or species	
Diabetics vs. nondiabetics (n = 18 vs. n = 18)	Real-time PCR	↑Betaproteobacteria ↓Firmicutes (Clostridia)		35
Diabetics vs. nondiabetics (n = 16 vs. n = 12)	Real-time PCR		↓ <i>Bifidobacterium</i> ↓ <i>Bacteroides vulgatus</i>	36
Diabetics vs. nondiabetic (n = 71 vs. n = 74)	Shotgun sequencing		↑ <i>Bacteroides caccae</i> ↑ <i>Clostridium hathewayi</i> ↑ <i>Clostridium ramosum</i> ↑ <i>Clostridium symbiosum</i> ↑ <i>Eggerthella lenta</i> ↑ <i>Escherichia coli</i> ↑ <i>Akkermansia muciniphila</i> ↑ <i>Desulfovibrio</i> ↓ <i>Clostridiales</i> sp. SS3/4 ↓ <i>Eubacterium rectal</i> ↓ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> ↓ <i>Roseburia intestinalis</i> ↓ <i>Roseburia inulinivorans</i>	37
Diabetics vs. nondiabetics (n = 53 vs. n = 43)	Shotgun sequencing		↑ <i>Lactobacillus</i> spp. ↓ <i>Clostridium</i> spp. ↑ <i>Clostridium clostridioforme</i> ↓ <i>Roseburia</i>	38
Prediabetics vs. nondiabetics (n = 64 vs. n = 44)	16S rDNA sequencing		↓ <i>Akkermansia muciniphila</i> ↓ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	39
Diabetics vs. prediabetics (n = 13 vs. n = 64)	16S rDNA sequencing		↓ <i>Bacteroides</i>	39

Πίνακας 1.4 Sanz et al Pediatric ReseARCH 2015. Table .Changes in the intestinal microbiota associated with type-2 diabetes (T2D) in humans [118]



Εικόνα 1.8 Σχηματική αναπαράσταση της αλληλεπίδρασης του εντερικού μικροβιώματος με τον άξονα ανοσοποιητικού –μεταβολικού συστήματος και τους διάφορους μηχανισμούς που προτείνονται εξηγεί τις επιπτώσεις της στην υγεία και τον κίνδυνο ασθενειών.

Στον διαβήτη τύπου 1, η εντερική δυσβίωση, η αυξημένη διαπερατότητα του εντέρου και οι αλλοιωμένοι μηχανισμοί που ρυθμίζονται από το ανοσοποιητικό σύστημα φαίνεται να πυροδοτούν την αυτοάνοση απόκριση που οδηγεί στην καταστροφή των κυττάρων στα παγκρεατικά νησίδια.

Στον διαβήτη τύπου 2, κορεσμένα λιπαρά και η δυσβίωση λόγω της "**παχυσαρκογενούς**" διατροφής προκαλούν φλεγμονή και αλλοιώσεις στη διαπερατότητα του εντέρου που συμβάλλουν στην εμφάνιση της νόσου. (Sanz et al *Pediatric ReseARCH* 2015)[119]

2.6.1.Η θέση της τροποποίησης του εντερικού μικροβιώματος στη θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη

Τα προβιοτικά περιέχουν μη παθογόνους ζώντες μικροοργανισμούς οι οποίοι τροποποιούν τη χλωρίδα του ξενιστή. Οι Calcinaro και συνεργάτες διερεύνησαν τα αποτελέσματα της από του στόματος χορήγησης προβιοτικών σε παχύσαρκα μη διαβητικά ποντίκια ηλικίας 4 εβδομάδων.

Σε ηλικία 32 εβδομάδων, μόλις 21% των ποντικιών που έλαβαν προβιοτικά ανέπτυξαν διαβήτη έναντι ποσοστού της τάξης του 81% στην ομάδα ελέγχου που έλαβε αγωγή με διάλυμα φωσφορικών. Τα ποντίκια της πρώτης ομάδας εμφάνισαν μειωμένη φλεγμονή των νησιδίων του παγκρέατος καθώς και μειωμένο ρυθμό καταστροφής των β-κυττάρων.[120]

Σε μια άλλη μελέτη, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι ένα προϊόν της ζύμωσης του γάλακτος, το οποίο περιέχει προβιοτικά βακτήρια, καθυστέρησε σημαντικά την εμφάνιση δυσανεξίας στη γλυκόζη, υπεργλυκαιμίας, υπερινσουλιναϊμίας και δυσλιπιδαιμίας και μείωσε το οξειδωτικό στρες σε διαβητικούς αρουραίους που έλαβαν δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη.[121]

Τα αποτελέσματα της μελέτης TEDDY έχουν δείξει ότι η χορήγηση προβιοτικών σε παιδιά ηλικίας μικρότερης των τριών μηνών, που παρουσίαζαν αυξημένο γενετικό κίνδυνο εκδήλωσης ΣΔ1, συνοδεύτηκε από μείωση της τάξης του 33% της αυτοανοσίας των β-κυττάρων του παγκρέατος.[122]

Σε μελέτη στην οποία χορηγήθηκε νορφλοξασίνη και αμπικιλίνη (1g/L) για 2 εβδομάδες σε ποντικούς ob/ob (παχύσαρκους ποντικούς με υπερινσουλιναϊμία και δυσλιπιδαιμία) παρατηρήθηκε καταστολή των αερόβιων και αναερόβιων βακτηρίων του τυφλού εντέρου που συνοδεύτηκε με σημαντική βελτίωση της μεταγευματικής γλυκαιμίας και της ανοχής στη γλυκόζη.[123] Τόσο τα επίπεδα πλάσματος των λιποπολυσακχαριτών όσο και η έκφραση του TNF-α στη νήστιδα ήταν σημαντικά χαμηλότερα στην ομάδα των ποντικιών στα

οποία είχαν χορηγηθεί αντιβιοτικά σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, γεγονός που υποδηλώνει ότι η τροποποίηση του μικροβιώματος του εντέρου από τον συνδυασμό νορφλοξασίνης και αμπικιλίνης βελτίωσε τη φλεγμονώδη κατάσταση του εντέρου. Ανάλογα ήταν τα αποτελέσματα όταν στα ποντίκια χορηγήθηκε πολυμυξίνη Β και νεομυκίνη.[123]

Η πρώτη θεραπευτική προσπάθεια με στόχο την τροποποίηση του ανθρώπινου μικροβιώματος έγινε σε πιλοτική μελέτη, σε 28 άτομα με προδιαβήτη ή διαβήτη, στα οποία χορηγήθηκε ο παράγοντας NM504 έναντι εικονικού φαρμάκου για 28 ημέρες. Ο παράγων NM504 αποτελεί συνδυασμό ινσουλίνης με β-γλυκάνη και ανθοκυανίνη πλούσιας σε πολυφαινόλες. Πρόκειται για συνδυασμό που μεταβάλλει την εντερική χλωρίδα, ενισχύοντας μία σειρά μικροβίων-φρουρών κατά της ανάπτυξης των μεταβολικών νοσημάτων, εις βάρος άλλης σειράς μικροβίων, τα οποία παρεμβαίνουν παθογενετικά στη δημιουργία αυτών των νοσημάτων. Ύστερα, από έναν μήνα εφαρμογής της θεραπείας, παρατηρήθηκε μείωση του μεταβολισμού της γλυκόζης, της HbA1C, της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, της ολικής χοληστερόλης και του pH του εντέρου ενώ αυξήθηκε η IgA. [124]

2.7. Εντερικό μικροβίωμα και παχυσαρκία

Η πρώτη αναφορά της διαφοράς στο εντερικό μικροβίωμα μεταξύ των παχύσαρκων και των αδύνατων φαινότυπων ήταν σε ποντίκια με έλλειψη λεπτίνης (ob / ob) το 2005 [125]. Αυτή η μελέτη έδειξε ότι, αναλογικά, το φύλο Bacteroidetes ήταν λιγότερο και το φύλο Firmicutes ήταν περισσότερο σε παχύσαρκους ob / ob ποντικούς σε σχέση με τα αδύνατα ποντίκια μετά την ανάλυση των δεδομένων με αλληλούχιση γονιδίου 16S rRNA. Και στις δύο ομάδες ποντικών εφαρμόστηκε η ίδια διατροφή. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η παχυσαρκία μπορεί να οφείλεται στη διαφορά που έχει η σύνθεση του μικροβιακού εντέρου, αν και δεν αποδείχθηκε να υπάρχει αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο φύλων και της ανάπτυξης της παχυσαρκίας.

Μια μεταγενέστερη μελέτη με παχύσαρκα δίδυμα αδέρφια έδειξε ότι η μείωση του ποσοστού των Bacteroidetes με αύξηση του ποσοστού Firmicutes συσχετίστηκε με την ενίσχυση των μικροβιακών γονιδίων, τα οποία κωδικοποιούν βασικά ένζυμα που σχετίζονται με το μεταβολισμό υδατανθράκων, ο οποίος κατά συνέπεια μπορεί να αυξήσει την ικανότητα να πέπτει τροφή και να παρέχει την ενέργεια όπως μικρής αλύσου λιπαρά οξέα (SCFAs) στον ξενιστή [126]. Με ενδιαφέρον παρατηρήθηκε ότι ο αποικισμός του εντερικού μικροβιώματος, όχι μόνο στους παχύσαρκους ποντικούς [125], αλλά και στους παχύσαρκους ανθρώπους [126] συγκριτικά με ποντίκια - αποδέκτες χωρίς μικρόβια μπορεί να αναπαράγει τον παχύσαρκο φαινότυπο. Διαπιστώθηκε επίσης ότι τα παχύσαρκα παιδιά έχουν ήδη διαφορετικά εντερικά μικροβιώματα σε σύγκριση με τα αδύνατα παιδιά [127]. Αυτή η διαφορά μπορεί να υποδηλώνει ότι η μικροβιακή σύνθεση του εντέρου κατά τη διάρκεια της πρώιμης παιδικής ηλικίας είναι βασικός παράγοντας για να γίνει παχύσαρκο το παιδί αργότερα στην ενήλικη ζωή και ότι η διαφοροποίηση του εντερικού μικροβιώματος στην πρώιμη ζωή μπορεί να είναι μια αποτελεσματική στρατηγική για την πρόληψη της παχυσαρκίας.

Έχει αναφερθεί ακόμα ότι μια διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά επηρεάζει τη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος σε ποντικούς. Το *Clostridium* ομάδα *coccoides* και γένος *Bifidobacterium* spp. ήταν σημαντικά μειωμένο σε παχύσαρκους ποντικούς, ενώ οι *Lactobacilli* / *Enterococci* και *Bacteroides* ήταν συγκρίσιμοι [128]. Η εφαρμογή μιας διατροφής με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά για 14 εβδομάδες προκάλεσε παρόμοιες αλλαγές, με μια σημαντική μείωση του *Eubacterium rectale* / *C. Coccoides* του *Bifidobacterium* spp. [129]

Είναι ενδιαφέρον ότι η από του στόματος χορήγηση του *Bacteroides uniformis* CECT 7771 βελτίωσε τις επαγόμενες - από τη διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά-ανοσολογικές και μεταβολικές διαταραχές που συσχετίζονται με τροποποιήσεις του εντερικού μικροβιώματος στα παχύσαρκα ποντίκια. [130]

Επιπρόσθετα, πρόσφατη αλληλούχιση του 16S rRNA γονιδίου των ποντικών με το - σχετιζόμενο με την παχυσαρκία- ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα έδειξε ότι η αναλογία των βακτηριδίων ήταν σημαντικά μειωμένη ,καθώς και ότι θετικά κατά gram βακτηρίδια όπως οι *Clostridiales* (κλωστηρίδια) και *Bacilli* (βάκιλλοι) αυξήθηκαν δραστικά στα ποντίκια που έλαβαν τροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά.[131]

Η σοβαρότητα του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος πιθανότατα αυξάνεται λόγω της παρουσίας μεγαλύτερης ποσότητας θετικών κατά Gram βακτηρίων ,επειδή παράγουν υψηλά επίπεδα δεοξυχολικού οξέος, ενός μεταβολίτη του εντερικού μικροβιώματος που μπορεί να βλάψει το DNA του ξενιστή μέσω του μεταβολισμού του χολικού οξέος. Η από του στόματος αντιμικροβιακή θεραπεία κατά των Gram θετικών βακτηρίων μείωσε σημαντικά τη σοβαρότητα του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος στα ποντίκια που τρέφονται με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, υποδηλώνοντας ότι η παχυσαρκία που προκαλείται από δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά ακολουθείται από αύξηση της εμφάνισης σε κλωστηρίδια και σε βάκιλλους συμβάλλοντας έτσι στην ανάπτυξη

ηπατοκυτταρικού καρκινώματος μέσω της παραγωγής δεοξυχολικού οξέος. [131]

Τα Ruminococcaceae και Rikenellaceae αυξήθηκαν σε ποντικούς που τρέφονται με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά [131]. Συμπερασματικά ειδικές αλλαγές στη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος που προκαλούνται από τη διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά συμβάλλοντας στην εμφάνιση παχύσαρκου φαινότυπου.

Σε ανάλυση της αύξησης βάρους που σχετίζεται με τα μικρόβια του εντέρου διαπιστώθηκε ότι ο αριθμός της *Akkermansia muciniphila* ήταν δραματικά μειωμένος (100 έως 1.000 φορές) και στα εκ γενετής παχύσαρκα ποντίκια και στα παχύσαρκα ποντίκια που προκύπτουν με διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά [132]. Αυτό το βακτηριακό είδος έχει αναφερθεί ως ένα νέο βλεννο-αποδομημένο βακτήριο που αποικίζει το στρώμα βλέννας και αποτελεί το 3-5% της μικροβιακής κοινότητας [132]. Περαιτέρω έρευνα έδειξε ότι η αναλογία αυτού του βακτηρίου συσχετίζεται αρνητικά με το σωματικό βάρος [127] όπως και ο διαβήτης τύπου 1, αλλά και ο διαβήτης τύπου 2.

Όταν η αναλογία του *A. Muciniphila* κανονικοποιήθηκε σε παχύσαρκους ποντικούς, είτε με χορήγηση από του στόματος *A. Muciniphila*, είτε με θεραπεία με την ολιγοφρουκτόζη ως προβιοτικό, σημειώθηκε βελτίωση σε αρκετές μεταβολικές διαταραχές, όπως η αύξηση του λίπους, η μεταβολική ενδοτοξιναιμία, η φλεγμονή του λιπώδους ιστού και η αντίσταση στην ινσουλίνη [132]. Η μελέτη έχει αποδείξει ότι όλα αυτά τα ευεργετικά αποτελέσματα απαιτούσαν βιώσιμα κύτταρα *A. Muciniphila* επειδή η θεραπεία θερμότητας που σκότωσε την *A. Muciniphila* δεν οδήγησε σε οποιαδήποτε βελτίωση σε αυτές τις μεταβολικές διαταραχές [132].

Το παχύσαρκο εντερικό μικροβίωμα φαίνεται να προκαλεί χρόνια χαμηλού βαθμού φλεγμονή στο έντερο του ξενιστή. Η χρόνια πειραματική μεταβολική ενδοτοξιναιμία προκαλούμενη από την παχυσαρκία, ο διαβήτης και η αντίσταση

στην ινσουλίνη ενεργοποιεί την έκφραση αρκετών φλεγμονωδών παραγόντων [127].

Οι de La Serre et al. αναφέρουν ότι η παχυσαρκία σε αρουραίους που προκλήθηκε από δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά οδήγησε σε αλλαγές στην σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος και την ενεργοποίηση του toll like υποδοχέα 4 (TLR4) στο επιθήλιο του εντέρου. Η υπόθεση είναι ότι η ενεργοποίηση του μονοπατιού TLR4 μέσω των αλλαγών του εντερικού μικροβιώματος προκάλεσαν γαστρεντερική φλεγμονή που σχετίζεται με τον παχύσαρκο φαινότυπο.[133]

Σε μελέτη των Fei και Zhao έχει αποδειχθεί ότι η συσχέτιση των ποντικών χωρίς μικρόβια (germ free) με *Enterobacter* που παράγει ενδοτοξίνη Cloacae και το στέλεχος B29 ,το οποίο απομονώθηκε από δείγμα παχύσαρκου ανθρώπου, προκαλεί παχυσαρκία και διαταραχές της ομοιόστασης της γλυκόζης, όταν τρέφονται με διατροφή υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, αλλά όχι κανονική διατροφή [134].

Αυτές οι μελέτες υποδηλώνουν ότι η μείωση των επιπέδων ενδοτοξίνης στο πλάσμα μπορεί να αποτελέσει ισχυρό όπλο για τον έλεγχο των μεταβολικών ασθενειών. Οι Vrieze et al. έχουν αναφέρει ότι η μεταμόσχευση κοπράνων του εντερικού μικροβιώματος από τους αδύνατους υγιείς δότες σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο μέσω μικρών εγχύσεων στο έντερο βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη [135]. Η βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη σε ασθενείς-αποδέκτες συσχετίστηκε με αύξηση του αριθμού των βακτηρίων που παράγουν βουτυρικά οξέα, υποδηλώνοντας ότι το μικροβιακό βουτυρικό οξύ μπορεί να συμβάλλει στην προώθηση αυτής της βελτίωσης.

Σε διάφορες μελέτες παρατηρείται αύξηση της αναλογίας των Firmicutes/ Bacteroidetes στην παχυσαρκία ενώ η απώλεια του βάρους αυξάνει τα είδη των Bacteroides [34]. Υπάρχουν όμως και μελέτες που καταλήγουν σε αντιφατικά αποτελέσματα [29]. Εκτιμήθηκαν οι διαφορές στον εντερικό μικροβίοκοσμο μεταξύ 98 ατόμων (παχύσαρκων, υπέρβαρων και φυσιολογικών) και τελικά η

αναλογία των Firmicutes και των Bacteroidetes άλλαξε υπέρ των Bacteroidetes στους υπέρβαρους και παχύσαρκους [31].

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ιαπωνία, εξετάστηκε ο εντερικός μικροβιόκοσμος 23 ατόμων με $\Delta\text{ΜΣ} < 20 \text{ kg/m}^2$ και σε 33 άτομα με $\Delta\text{ΜΣ} > 25 \text{ kg/m}^2$. Παρατηρήθηκε ότι η βακτηριακή ποικιλομορφία ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στα παχύσαρκα άτομα σε σχέση με τα άτομα φυσιολογικού βάρους όπως επίσης και η αναλογία των Firmicutes προς Bacteroidetes [30].

Σε άλλη μελέτη, όπου αξιολογήθηκε ο εντερικός μικροβιόκοσμος σε 82 ενήλικα άτομα, παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των ατόμων με $\Delta\text{ΜΣ} > 25 \text{ kg/m}^2$ ή $< 25 \text{ kg/m}^2$ σε σχέση με τον εντερικό μικροβιόκοσμο. Το φύλο, ο $\Delta\text{ΜΣ}$ και η πρόσληψη διαιτητικών ινών συμβάλλουν στη διαμόρφωση του εντερικού μικροβιόκοσμου στον άνθρωπο. Οι πληθυσμοί των Bacteroidetes και η βιοποικιλότητα είναι χαμηλότερα στις υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες σε σχέση με τις φυσιολογικού βάρους, λαμβάνοντας υπόψιν τον παράγοντα φύλο. Το φύλο πιθανόν να επηρεάζει τον εντερικό μικροβιόκοσμο μέσω των διαφορών του χρόνου διέλευσης του εντέρου ο οποίος φαίνεται να είναι μεγαλύτερος στις γυναίκες από τους άντρες [20].

Σε μελέτη των Zuo και των συνεργατών του εξετάστηκε ο εντερικός μικροβιόκοσμος 104 ατόμων, εκ των οποίων τα 52 άτομα είχαν $\Delta\text{ΜΣ} > 28 \text{ kg/m}^2$, ενώ στους υπόλοιπους ο $\Delta\text{ΜΣ}$ κυμαινόταν μεταξύ 18,5 έως 24 kg/m^2 . Οι ερευνητές συμπεραίνουν ότι τα παχύσαρκα άτομα είχαν μικρότερες ποσότητες του *Clostridium perfringens* και του γένους *Bacteroides* σε σχέση με τα άτομα με φυσιολογικό βάρος. [136]

Χρησιμοποιώντας μοριακές τεχνικές (metagenomics), αξιολογήθηκε ο εντερικός μικροβιόκοσμος 292 ατόμων σε πληθυσμό της Δανίας. Οι 169 ήταν παχύσαρκοι και οι 123 φυσιολογικοί. Τα άτομα με χαμηλή βακτηριακή βιοποικιλότητα (LGC) χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερου βαθμού παχυσαρκία, αντίσταση στην ινσουλίνη και δυσλιπιδαιμία. Επιπλέον παρατηρείται πιο έντονο φλεγμονώδες προφίλ σε σύγκριση με τα άτομα με υψηλή βακτηριακή ποικιλότητα (HGC) και πιο εύκολη η τάση για πρόσληψη βάρους. Οι διαφορές

μεταξύ των δυο ομάδων ήταν σημαντικές σε επίπεδο μικροοργανισμών, μικροβιακών γονιδίων αλλά και στο φαινότυπο των ξενιστών [137].

Επιπλέον έγινε σύγκριση στον εντερικό μικροβιόκοσμο 38 παχύσαρκων και 11 υπέρβαρων ατόμων, ακολουθώντας αντίστοιχες τεχνικές (metagenomics) και τον ίδιο δείκτη αξιολόγησης της μικροβιακής ποικιλότητας, με την προηγούμενη ομάδα. Οι εθελοντές ακολούθησαν διατροφική παρέμβαση 12 εβδομάδων. Τα άτομα με χαμηλή βακτηριακή βιοποικιλότητα (LGC) παρουσίαζαν πιο έντονη τη δυσλειτουργία του μεταβολισμού και τη φλεγμονή χαμηλού βαθμού. [137] Τις πρώτες 6 εβδομάδες η διατροφική παρέμβαση ήταν δίαιτα χαμηλή σε ενέργεια και υψηλή σε πρωτεΐνες. Το διάστημα αυτό παρατηρήθηκε μείωση του μεταβολικού φλεγμονώδους προφίλ, καθώς επίσης και αύξηση της βιοποικιλότητας στην ομάδα χαμηλής βακτηριακής βιοποικιλότητας (LGC). Τις υπόλοιπες 6 εβδομάδες οι εθελοντές ακολούθησαν διατροφική παρέμβαση για τη διατήρηση απώλειας βάρους. Παρατηρήθηκε τάση για επαναφορά στο αρχικό μεταβολικό προφίλ και προοδευτική μείωση των δεικτών φλεγμονής[138]. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται ώστε να διευκρινιστούν όλα τα παραπάνω συμπεράσματα όπως επίσης και δεδομένα σχετικά με αλλαγές των υπολοίπων συμβιόντων του εντέρου για τους οποίους δεν υπάρχουν αναφορές. Αξίζει να αποτυπωθεί και να αναφερθεί ο ρόλος των ζυμών και των μυκήτων στις αλλαγές του βάρους.

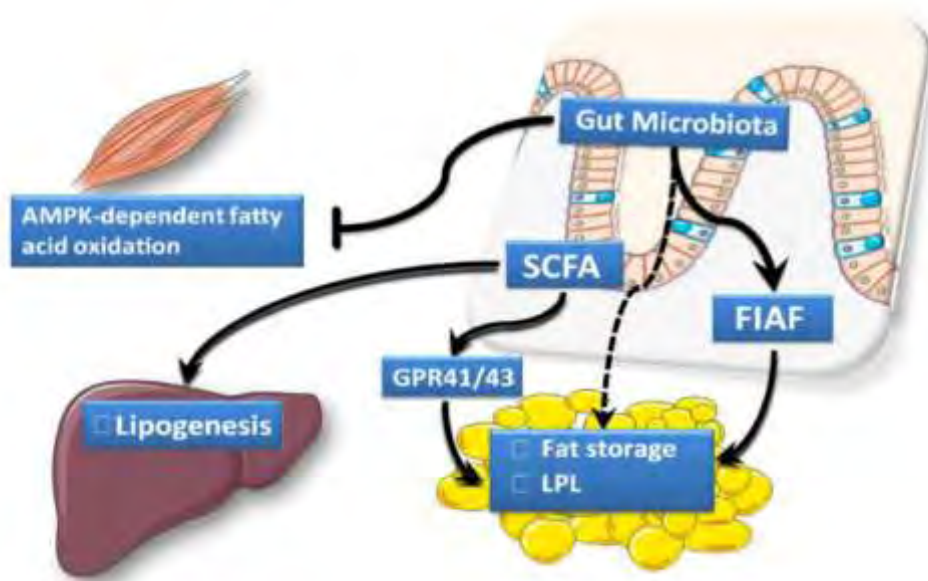
Ωστόσο οι ακριβείς μηχανισμοί μέσω των οποίων εμπλέκεται ο εντερικός μικροβιόκοσμος δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως.

Δύο είναι οι υποθέσεις που προτείνονται όσον αφορά τον μηχανισμό με τον οποίο δρουν τα συστατικά του εντερικού μικροβιόκοσμου και συμβάλλουν στην κατάσταση της παχυσαρκίας.

Η πρώτη υπόθεση σχετίζεται με το ισοζύγιο ενέργειας του ξενιστή μέσω των μηχανισμών πρόσληψης, αποθήκευσης και κατανάλωσης ενέργειας. Οι διαφορετικοί μικροοργανισμοί που εμφανίζονται στα παχύσαρκα άτομα, εκμεταλλεύονται πιο αποδοτικά τα άπεπτα συστατικά της διαίτας του ξενιστή μέσω των συνεχών ζυμώσεων και της παραγωγής μεγαλύτερων ποσοτήτων λιπαρών οξέων μικρής αλυσίδας (SCFA), τα οποία στη συνέχεια μετατρέπονται

σε λίπος στο ήπαρ [39]. Όταν συγκρίθηκαν οι ποσότητες των SCFAs μεταξύ παχύσαρκων, υπέρβαρων και αδύνατων ατόμων, φάνηκε ότι τα παχύσαρκα και υπέρβαρα άτομα παράγουν περισσότερα SCFAs από τους αδύνατους λόγω των διαφορών στον εντερικό μικροβιόκοσμο μεταξύ τους [139]. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται ώστε να διευκρινιστούν τα παραπάνω δεδομένα. Τα λιπαρά οξέα μικρής αλυσίδας φαίνεται ότι επιδρούν και στην έκφραση γονιδίων του ξενιστή που σχετίζονται με την δαπάνη και την αποθήκευση ενέργειας στον ξενιστή. Από πειράματα σε ποντίκια χωρίς μικροοργανισμούς (germ free) έχει παρατηρηθεί αύξηση της έκφρασης των mRNAs των ηπατικών ενζύμων ChREBP και SREBP-1, τα οποία παίρνουν μέρος στην ηπατική de novo λιπογένεση. Ακόμη, ο εντερικός μικροβιόκοσμος ευνοεί τη δημιουργία λίπους μέσω ενός μηχανισμού που συνδέει τα ελεύθερα τριγλυκερίδια με την καταστολή επιλεκτικά στο έντερο του FIAF (fasting- induced adipose factor) ενός αναστολέα της LDL (adipocyte lipoprotein lipase), όπως προκύπτει από πειράματα σε ποντίκια χωρίς μικροοργανισμούς (germ free) [38].

Ο εντερικός μικροβιόκοσμος αναστέλλει επίσης τη δράση της AMPK (AMP-activated protein kinase) που σχετίζεται με την οξείδωση των λιπαρών οξέων στο ήπαρ και τους σκελετικούς μύες [39]. Επίσης από πειράματα σε εμβολιασμένα με εντερικό μικροβιόκοσμο, knock-out ποντίκια για τους υποδοχείς GPR41 και GPR43 (G-protein coupled receptor), στους οποίους συνδέονται τα λιπαρά οξέα μικρής αλυσίδας, παρατηρήθηκε ότι τα πειραματόζωα αυτά δεν έπαιρναν βάρος σε σχέση με τα φυσιολογικά επίσης εμβολιασμένα πειραματόζωα [128].

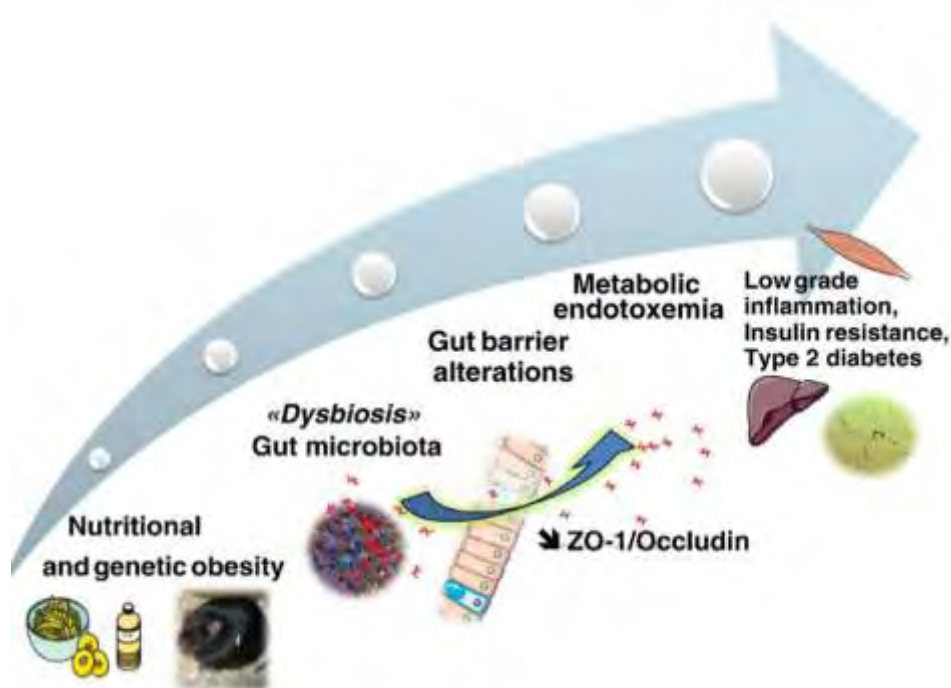


Εικόνα 1.9: Προτεινόμενοι μηχανισμοί για το ρόλο του εντερικού μικροβιόκοσμου στην παραγωγή και αποθήκευση ενέργειας στον ξενιστή [139].

Η δεύτερη υπόθεση συνδέει την παχυσαρκία με τον εντερικό μικροβιόκοσμο μέσω της φλεγμονής χαμηλού βαθμού. Είναι γνωστό ότι η παχυσαρκία και η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι καταστάσεις όπου επικρατεί χαμηλού βαθμού φλεγμονή, με χαρακτηριστική την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1, IL-6, TNF- α). Φαίνεται ότι η χαμηλού βαθμού φλεγμονή που προκαλείται από δίαιτα υψηλή σε λιπαρά προκαλεί, τόσο σε πειραματόζωα, όσο και σε ανθρώπους, αύξηση της συγκέντρωσης των LPS στην κυκλοφορία του αίματος (μεταβολική ενδοτοξαιμία). Σε ζωικά μοντέλα, η υποδόρια έγχυση των LPS μπορεί να προκαλέσει αύξηση του σωματικού βάρους και αντίσταση στην ινσουλίνη χωρίς να μεταβάλλεται η πρόσληψη ενέργειας. Οι ενδοτοξίνες ενεργοποιούν τα μακροφάγα στο λιπώδη ιστό και στην περιφερική κυκλοφορία που είναι γνωστό ότι ρυθμίζουν την ανοσία και τη χρόνια φλεγμονή [140].

Το LPS είναι συστατικό των κυτταρικών τοιχωμάτων των Gram – βακτηρίων όπως είναι τα Bacteroidetes [27] και πιθανές μεταβολές στη σύσταση

του εντερικού μικροβιόκοσμου, μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα αύξηση της συγκέντρωσής τους. Μεταφέρονται από το παχύ έντερο μέσω χυλομικρών στη συστηματική κυκλοφορία. Τα χυλομικρά (λιποπρωτεΐνες) συντίθενται από τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου σε απόκριση δίαιτας υψηλής σε λίπος. Η σύνδεση των LPS στα CD14 κύτταρα μέσω του υποδοχέα TLR4 προκαλεί την έκκριση προφλεγμονωδών ενώσεων. Γενετικά τροποποιημένα ποντίκια που δεν έχουν TLR4 ο οποίος αναγνωρίζει το LPS είναι ανθεκτικά στην παχυσαρκία από τη διατροφή και στην αντίσταση της ινσουλίνης [27].



Εικόνα 1.10: Προτεινόμενοι μηχανισμοί για τη δράση του εντερικού μικροβιόκοσμου στην εμφάνιση μεταβολικής ενδοτοξιναιμίας και παχυσαρκίας .[27]

Σε μελέτη καταγραφής της ημερήσιας πρόσληψης τροφίμων που πραγματοποιήθηκε σε 37 έφηβους, παρατηρήθηκε ότι στους άντρες εφήβους οι κυτταροκίνες παρουσίαζαν συσχέτιση με την κατανάλωση των ολικών λιπιδίων [141]. Η ενσωμάτωση των LPS στις λιποπρωτεΐνες αυξάνει το κλάσμα των λιπιδίων τα οποία οδηγούν στη φλεγμονή. Αυτό θα μπορούσε να διαμεσολαβείται από τους υποδοχείς CD36 και SR-BI, οι οποίοι έχουν υψηλή συγγένεια προς τα

LPS. Οι λιποπρωτεΐνες με ενσωματωμένα τα LPS, έχουν αυξημένη διακυττάρωση μέσω ενδοθηλίου και με αυτό τον τρόπο μετατοπίζουν ένα υψηλότερο ποσό των λιποπρωτεϊνών με LPS σε λιποκύτταρα, γεγονός μπορεί να αυξήσει τη λιπογένεση και έκθεση των λιποκυττάρων και των μακροφάγων σε LPS, η οποία είναι υπεύθυνη για τη φαινοτυπική αλλαγή από M2 σε M1 μακροφάγα στο λιπώδη ιστό και το θάνατο λιποκυττάρων. Τα LPS εμπλέκονται στην ανάπτυξη της παχυσαρκίας ως ο άμεσος στόχος για τη μεταφορά και την αποθήκευση των λιπιδίων στο λιπώδη ιστό [142].

2.7.1. Παχυσαρκία, μικροχλωρίδα & επιθηλιακή ακεραιότητα

Πειραματικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι η διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά μπορεί να επηρεάσει την επιθηλιακή ακεραιότητα οδηγώντας σε διαταραχή της διαπερατότητας του εντέρου και συνεπώς σε συστηματική φλεγμονή μέσω της μετατόπισης των προσδετών Tlr [143].

Οι πρεβιοτικοί υδατάνθρακες, αλλά και τα αντιβιοτικά μείωσαν τα συστηματικά επίπεδα ενδοτοξίνης και την έκφραση των φλεγμονωδών κυτοκινών στο ήπαρ. Αυτή η βελτίωση της μεταβολικής φλεγμονής σε παχύσαρκα ποντίκια μπορεί να περιλαμβάνει όχι μόνο αλλαγές στη μικροχλωρίδα αλλά και έκφραση του προσομοιάζοντος με τη γλυκαγόνη πεπτιδίου 2 (Glp2), ενός εντερικού αυξητικού παράγοντα με αντιφλεγμονώδεις δραστηριότητες που σταθεροποιεί τη λειτουργία του εντερικού φραγμού [143]. Η πρεβιοτική θεραπεία βελτίωσε την διαπερατότητα του εντέρου, τη συστηματική φλεγμονή, την ηπατική έκφραση των προφλεγμονωδών κυτοκινών καθώς και την ευαισθησία στην ινσουλίνη στους ob / ob παχύσαρκους ποντικούς, παράλληλα με την αυξημένη εντερική έκφραση Glp2.

Η θεραπεία με αγωνιστή Glp2 αποκάλυψε παρόμοια ευεργετικά αποτελέσματα. Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα έχει επίσης αποδειχθεί ότι μπορεί να μεσολαβήσει στην επίδραση της μικροχλωρίδας στην διαπερατότητα του εντέρου. [144] Μελέτες που περιελάμβαναν συγκεκριμένους ανταγωνιστές και αγωνιστές έδειξαν ότι το ενδοκανναβινοειδές σύστημα ελέγχει όχι μόνο τη

διαπερατότητα του εντέρου αλλά και τα επίπεδα LPS πλάσματος και τη λιπογένεση. Τα ενδοκανναβινοειδή αυξάνουν την έκφραση του mRNA της πρωτεΐνης occludin-1 και ειδικότερα στο επίπεδο των στενών συνδέσεων, όμως μειώνουν την έκφραση της claudin-1, υποστηρίζοντας έτσι έναν πιθανό ρόλο στη ρύθμιση της διαπερατότητας του εντέρου [144].

Οι ποντικοί Sprague-Dawley τυπικά εμφανίζονται είτε με φαινότυπο που είναι επιρρεπής στην παχυσαρκία, είτε με ανθεκτικότητα στην παχυσαρκία. Επομένως, αυτό το μοντέλο θα μπορούσε να είναι το κατάλληλο μέσο να αποκοπεί η διατροφή από τη σχετιζόμενη παχυσαρκία / φλεγμονή. Όταν εφαρμόζεται διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, μόνο οι ποντικοί με ανθεκτικότητα στην παχυσαρκία παρουσιάζουν αύξηση στην έκφραση Tlr4 που σχετίζεται με φλεγμονή του ειλεού[145]. Επιπλέον, η διαπερατότητα του εντέρου και τα επίπεδα της ενδοτοξίνης στον ορό αυξήθηκαν στους επιρρεπείς στην παχυσαρκία, αλλά όχι στους ανθεκτικούς στην παχυσαρκία ποντικούς. Ωστόσο, η διατροφή προκάλεσε πανομοιότυπες αλλαγές στα μικροβιώματα και στις δύο ομάδες.

Η αντιβιοτική θεραπεία μπορεί να είναι ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει την επιθηλιακή ακεραιότητα, καθώς η θεραπεία με μετρονιδαζόλη μειώνει το πάχος βλέννας και έτσι προδιαθέτει ποντίκια σε επιδεινούμενη κολίτιδα που προκαλείται από *Citrobacter rodentium*[146]. Επιπλέον, η ευρεία χρήση των αντιβιοτικών στην πρόωμη ζωή έχει προταθεί ως σύνδεσμος με την επιδημία της παχυσαρκίας. Ωστόσο, θα πρέπει να προσδιοριστεί σαφώς εάν η λειτουργία του γαστρεντερικού φραγμού είναι πράγματι εξασθενημένη στην ανθρώπινη παχυσαρκία. Στην πραγματικότητα, σε μια πρόσφατη μελέτη σε 13 παχύσαρκα και 11 άτομα ελέγχου δεν βρέθηκαν ενδείξεις εξασθένησης της λειτουργίας του φραγμού, ενώ μόνο τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης ήταν αυξημένα (ύπαρξη φλεγμονής) [147].

Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για τον καλύτερο προσδιορισμό της επιθηλιακής ακεραιότητας στην ανθρώπινη παχυσαρκία και του ενδεχόμενου ρόλου της στη μικροχλωρίδα.

2.8. Εντερικό μικροβίωμα & η μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδης ηπατική νόσος (NAFLD)

Η μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδης ηπατική νόσος (NAFLD) είναι η μεγαλύτερη διαδεδομένη ηπατική νόσος σε πολλές χώρες σε όλο τον κόσμο. Η NAFLD χαρακτηρίζεται από εναπόθεση λίπους (στεάτωση) στο ήπαρ που δεν σχετίζεται με την υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ. Παρατηρείται σε καταστάσεις αντίστασης στην ινσουλίνη, αλλά και στο μεταβολικό σύνδρομο. Η NAFLD μπορεί να προχωρήσει από απλή λιπώδης διήθηση σε ηπατική κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα [148]. Η μη αλκοολικής αιτιολογίας στεατοηπατίτιδα (NASH) είναι η πιο σοβαρή μορφή της NAFLD που επηρεάζει το 10-20% όλων των ασθενών με NAFLD και αποτελεί κύρια αιτία κίρρωσης του ήπατος. Η επίπτωση της NASH αυξάνεται, ωστόσο, οι βασικοί μηχανισμοί παραμένουν ασαφείς. Υποτίθεται ότι διάφοροι γενετικοί, μεταβολικοί, φλεγμονώδεις και περιβαλλοντικοί παράγοντες συμβάλλουν στην παθογένεση.

Πολλές μελέτες σε ανθρώπους και ζώα έχουν διερευνήσει τη σχέση μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος και της NAFLD. Τα συμβατικά ποντίκια έχουν υψηλότερη συγκέντρωση τριγλυκεριδίων του ήπατος από ότι τα ποντίκια χωρίς μικρόβια, αν και η ποσότητα πρόσληψης τροφής ήταν μειωμένη. Ο αποικισμός του εντερικού μικροβιώματος σχετίζεται με μεγαλύτερη απορρόφηση μονοσακχαρίτη από τον αυλό του εντέρου προάγοντας τη de novo σύνθεση λιπαρών οξέων, αλλά και την παραγωγή τριγλυκεριδίων στο ήπαρ, γεγονός που επιβεβαιώνεται από την αυξημένη δραστηριότητα ενζύμων όπως της ακετυλο-CoA καρβοξυλάσης καθώς και της συνθετάσης των λιπαρών οξέων [148].

Διαπιστώθηκε όμως ότι η σύνθεση προϊόντων μικροβιακής ζύμωσης συμπεριλαμβανομένης της αιθανόλης στο έντερο είναι ένας βασικός παράγοντας για την πρόκληση της παχυσαρκίας σε ποντικούς και μπορεί να σχετίζεται με την παθογένεση της λιπώδους ηπατικής νόσου [148]. Όπως συμβαίνει και με την παχυσαρκία, η χρόνια φλεγμονή που σχετίζεται με τη μικροβιακή ενδοτοξίνη περιλαμβάνει τη σηματοδότηση του CD14-TLR4, αλλά και την ενεργοποίηση

των ηπατικών Kupffer κυττάρων σε ποντίκια και αυτό φαίνεται να συνεισφέρει στην παθογένεση της NAFLD.[149]

Η μικροχλωρίδα του εντέρου μπορεί έμμεσα να προάγει τη στεάτωση του ήπατος και τη λιπυπεροξειδωση μέσω της διαμεσολαβούμενης σηματοδότησης του υποδοχέα φαρνεοειδούς X, η οποία επηρεάζει την έκκριση χολικών οξέων σε ποντίκια [150]. Αυτές οι μελέτες δείχνουν ότι η εντερική μικροχλωρίδα μπορεί να προκαλέσει λιπώδες ήπαρ μέσω της αυξημένης απορρόφησης μονοσακχαριτών [149], της παραγωγής ηπατοτοξικής αιθανόλης, της χρόνιας χαμηλού βαθμού φλεγμονής που επάγεται από μικροβιακές ενδοτοξίνες, καθώς και της διαμόρφωσης του μεταβολισμού των χολικών οξέων [151].

Οι Sabate et al. [152] υποστηρίζουν ότι η υπερανάπτυξη του εντερικού μικροβιώματος σε παχύσαρκους ασθενείς μπορεί να συνδέεται με τη στεάτωση του ήπατος. Οι Wigg et al. αναφέρουν ότι οι μισοί ασθενείς με NASH παρουσιάζουν μικροβιακή υπερανάπτυξη και αυξημένα επίπεδα παράγοντα νέκρωσης όγκου άλφα (TNF-α) στον ορό, υποδηλώνοντας ότι η NASH μπορεί να σχετίζεται με μικροβιακή δυσβίωση του εντέρου και συστηματική φλεγμονή, αν και η διαπερατότητα του εντέρου παραμένει αμετάβλητη [153]. Οι Miele et al. [154] διαπίστωσαν ότι η ανάπτυξη της NAFLD σε ανθρώπους σχετίζεται με αυξημένη εντερική διαπερατότητα λόγω μικροβιακής υπερανάπτυξης στο λεπτό έντερο και της διάσπασης των στενών συνδέσεων του εντερικού βλεννογόνου.

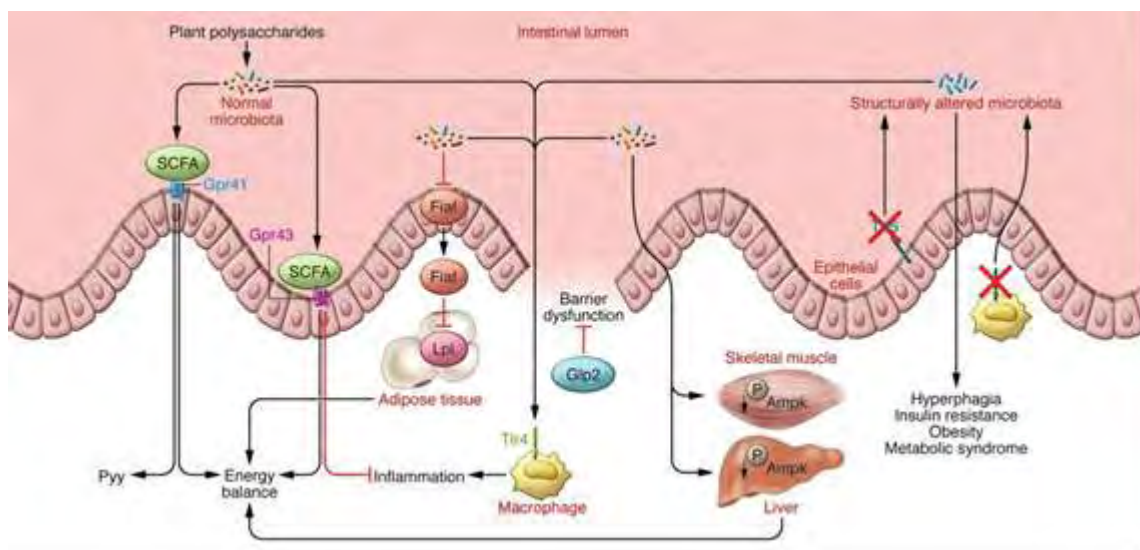
Επιπλέον, οι Verdam et al. [155] έχουν δείξει ότι η χρόνια ενδοτοξιναιμία σε ασθενείς ανθρώπους συσχετίζεται με τη σοβαρότητα της NAFLD. Τα επίπεδα συστηματικής αιθανόλης ήταν σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς με NASH από ό, τι σε υγιή άτομα, γεγονός που δείχνει ότι τα μικρόβια που παράγουν αιθανόλη μπορεί να σχετίζονται με την παθογένεση της NASH.

Η εξάντληση της χολίνης στη διατροφή μπορεί επίσης να παίζει ρόλο στην ανάπτυξη της ανθρώπινης NAFLD [156]. Στη μελέτη αυτή, 15 θηλυκά άτομα τοποθετήθηκαν σε καλά ελεγχόμενες δίαιτες στις οποίες τα επίπεδα χολίνης προσαρμόστηκαν. Βρέθηκε ότι η ανεπάρκεια της χολίνης στη διατροφή

τροποποίησε την μικροβιακή σύνθεση του εντέρου και όσον αφορά τα επίπεδα βακτηρίων Gammaproteobacteria και Erysipelotrichi υπήρχε θετική συσχέτιση με τις αλλαγές στην περιεκτικότητα του ήπατος σε λίπος.[157]

Οι ασθενείς με NASH είχαν μικρότερο ποσοστό του βακτηριακού φύλου Bacteroidetes συγκριτικά με υγιείς ομάδες ελέγχου αλλά και με ασθενείς που είχαν απλή στεάτωση, ποσοστό το οποίο φαίνεται να είναι παρόμοιο με το μικροβιακό προφίλ του εντέρου σε παχύσαρκα άτομα [158].

Συγκεντρωτικά, τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η διαφορά στο μικροβιακό προφίλ εντέρου μεταξύ NAFLD, NASH, παχύσαρκων αλλά και υγιών μπορεί επίσης να προσφέρουν έναν δείκτη διάγνωσης ως στόχο για προληπτική / θεραπευτική ιατρική όπως είναι η προβιοτική παρέμβαση, για αυτές τις ασθένειες.



Εικόνα 1.11 Η μικροχλωρίδα ρυθμίζει τις μεταβολικές λειτουργίες του ξενιστή . Το μικροβίωμα ελέγχει τη φυσιολογία του ξενιστή σε πολλαπλά επίπεδα. Μικροβιακά μεταβολικά προϊόντα όπως τα SCFA δεσμεύονται με GPCRs σε εντερικά επιθηλιακά κύτταρα (για παράδειγμα, Gpr41 και Gpr43) για τον έλεγχο της ενεργειακής ισορροπίας, εν μέρει μέσω της ορμόνης που προέρχεται από έντερο Pyy, καθώς και για τον έλεγχο της φλεγμονώδους απόκρισης του ξενιστή. Ενεργοποίηση Tlr5 (π.χ. μέσω βακτηριακού μαστιγώματος) πιθανώς σε επιθηλιακά ή μυελοειδή κύτταρα επηρεάζουν βαθιά τη δομική σύνθεση της εντερικής μικροβιώματος, η οποία με τη σειρά της ρυθμίζει την όρεξη, την πρόσληψη βάρους και την ευαισθησία στην ινσουλίνη μέσω άγνωστων μηχανισμών. Τα μικροβιακά σήματα ρυθμίζουν επίσης την απελευθέρωση Fiaf από εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, τα οποία δρουν ως αναστολέας του Lpl και επομένως ρυθμίζει την αποθήκευση περιφερικού λίπους. Μέσω ενός άλλου άγνωστου μηχανισμού, η μικροχλωρίδα ρυθμίζει επίσης τη μέτρηση ενέργειας στο ήπαρ και τους μυς μέσω της φωσφορυλίωσης του Ampk. Το Glp2 επιβεβαιώνει τη λειτουργία του επιθηλιακού φραγμού και ένα διαπερατό φράγμα οδηγεί σε έκθεση και στην ενεργοποίηση των μυελοειδών κυττάρων σε απόκριση σε μικροβιακά σήματα όπως ο συνδέτης ενδοτοξίνη Tlr4 (Herbert Tilg and Arthur Kaser et al The Journal of Clinical Investigation ,June 2011)[159]

Fiaf , παράγοντας στεάτωσης που προκαλείται από τη νηστεία
SCFA , λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας
Glp2 , γλυκαγόνη-όπως το πεπτίδιο 2
Gpr41 / 43 , συζευγμένο με πρωτεΐνη G υποδοχέα
Pyy , πεπτίδιο YY
Lpl , λιπάση λιποπρωτεΐνης

2.9.Επίδραση γενετικών παραγόντων

Μελέτες έχουν δείξει ότι άτομα με MetS είχαν χαμηλότερη μικροβιακή ποικιλία από υγιή άτομα. Συγκεκριμένα τα είδη *Sutterella*, *Methanobrevibacter* και *Lactobacillus* έχουν παρατηρηθεί στην ομάδα ατόμων με MetS, ενώ τα *Akkermansia*, *Odoribacter* και *Bifidobacterium* στην ομάδα υγιών ατόμων. Μεταξύ των ειδών που σχετίζονται με την κατάσταση του MetS, το φύλο *Actinobacteria*, στο οποίο ανήκει το *Bifidobacterium*, είχε την υψηλότερη κληρονομικότητα (45,7%). Οι μειωμένες συγκεντρώσεις των ειδών *Actinobacteria* και *Bifidobacterium*, συνδέθηκαν σημαντικά με την ύπαρξη του δευτερεύοντος αλληλομόρφου στο APOA5 SNP rs651821.[143]

Γενετικοί παράγοντες εμπλέκονται στην ανάπτυξη του MetS. Έχει βρεθεί ότι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNP) στα γονίδια που κωδικοποιούν τη λιπάση λιποπρωτεΐνης, την πρωτεΐνη μεταφοράς χοληστερεστέρα και απολιποπρωτεΐνης A (APOA).

Το γονίδιο APOA5 κωδικοποιεί την απολιποπρωτεΐνη AV, ένα συστατικό των χυλομικρών, λιποπρωτεϊνών πολύ χαμηλής πυκνότητας και σωματιδίων λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας (HDL). [143] Αυτό το γονίδιο, το οποίο βρίσκεται κοντά στο σύμπλεγμα γονιδίων APOA1 / C3 / A4 στο χρωμόσωμα 11 συμμετέχει στη ρύθμιση του μεταβολισμού των τριγλυκεριδίων.

Τα διαγονιδιακά ποντίκια APOA5 είχαν σημαντικά μειωμένα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο πλάσμα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα άγριου τύπου, ενώ τα ποντίκια που δεν είχαν το γονίδιο APOA5 είχαν επίπεδα τριγλυκεριδίων τετραπλάσια από τα ποντίκια ελέγχου. [143]

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί σε ανθρώπους ότι SNPs στο γονίδιο APOA5 σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο πλάσμα. Το rs651821 SNP, τοποθετημένο 3bp ανοδικά του κωδικόνιου έναρξης της APOA5, παρουσίασε σημαντικές συσχετίσεις με τα είδη του εντερικού μικροβιώματος για αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης υπερτριγλυκεριδαιμίας ή MetS σε διάφορους

πληθυσμούς.[144]Πιο συγκεκριμένα,κάθε επιπρόσθετο αντίγραφο του αλληλόμορφου C στο APOA5 SNP rs651821 μειώνει τις συγκεντρώσεις του φύλου Actinobacteria, της κατηγορίας Actinobacteria, Bifidobacteriales, Bifidobacteriaceae και Bifidobacterium. Έτσι, ο πολυμορφισμός SNP rs651821 του γονιδίου APOA5 μπορεί να είναι ένας σημαντικός γενετικός παράγοντας του ξενιστή για τον προσδιορισμό των βακτηριδίων Bifidobacterium που προάγουν την υγεία και των ειδών στα οποία ανήκει αυτό το γένος.

Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι σε μια πρόσφατη μελέτη που βασίζεται σε ασθενείς με Ελκώδη Κολίτιδα συνδυάζοντας μεταγραφική και μικροβιακή προδιάθεση του ξενιστή, διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα έκφρασης των APOA1, APOA4 και APOC3 στο εσωτερικό του ειλεού ήταν μειωμένα σε σχέση με υγιή άτομα και συσχετίστηκαν με αφθονία συγκεκριμένων ειδών Firmicutes και Bacteroidetes.[144]

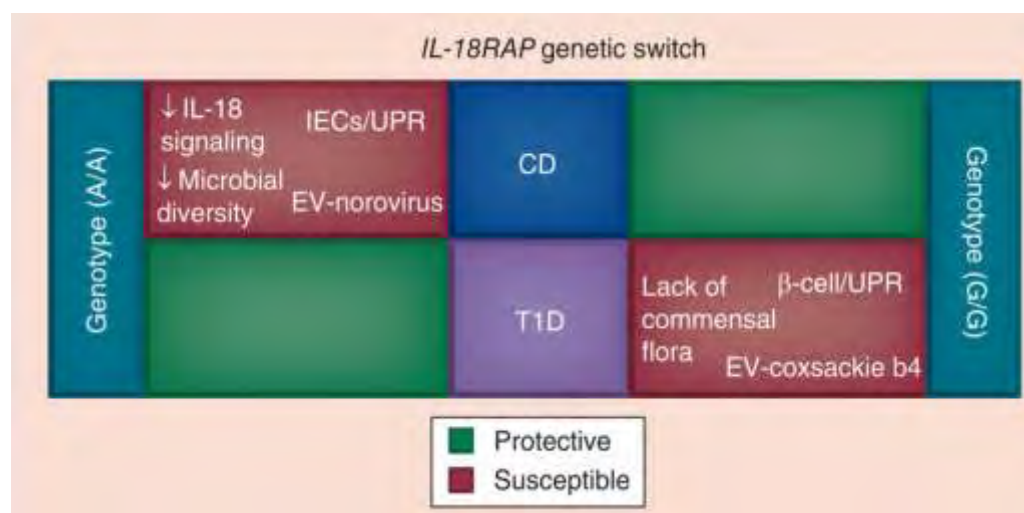
ΣΔ2

Το είδος του εντερικού μικροβιώματος *B. coprocola*, είχε σχετική αφθονία μεταξύ των ασθενών με ΣΔ2.Δύο από τα γονίδια (EDU99824.1 και EDV02301.1)κωδικοποιούν τις υδρολάσες γλυκοζυλίωσης ,που συμβάλλουν στην αποικοδόμηση της κυτταρίνης και του αμύλου με αποτέλεσμα τη δημιουργία σακχάρων. Είναι ενδιαφέρον ότι η άλφα-γλυκοσιδάση, η οποία είναι επίσης μια γλυκοζυλική υδρολάση που βρίσκεται στα όρια του λεπτού εντέρου, είναι ένας σημαντικός στόχος φαρμάκου του ΣΔ2.[145]

ΣΔ1

Τα SNPs των γονιδίων INS και IFIH1 έχουν συσχετιστεί με ΣΔ1 . Οι Huang et al. χρησιμοποίησαν μέθοδο με βάση το γονιδίωμα 1000 Genomes για την ταυτοποίηση των γενετικών πολυμορφισμών που σχετίζονται με ΣΔ1 (IL-2RA και CUX2) [145]. Οι Wang et al. έχουν ταυτοποιήσει ειδικούς SNPs (PTPN22, IL-10, IL-27 και IL18RAP) που έχουν αντίθετες συνέπειες για την εκδήλωση του ΣΔ1 , υποδεικνύοντας ότι η ίδια ρύθμιση μιας συγκεκριμένης παθολογικής ανοσολογικής οδού μπορεί να αποτελέσει κίνδυνο για μία ασθένεια και προστασία για άλλη ασθένεια [142]. Το PTPN22 (R602W) αυξάνει τον

κίνδυνο για την εμφάνιση του ΣΔ1. Ο rs3024505 SNP που βρίσκεται στην IL-10, [142] και ο τόπος rs4788084, που εντοπίζεται κοντά στα γονίδια IL-27 και NURP1, έχουν προστατευτικό ρόλο για την εκδήλωση του ΣΔ1.[143]



Εικόνα 1.12: Σε άτομα με το γονότυπο IL-18RAP G / G, η έλλειψη μικροβιώματος, η μόλυνση του βλεννογόνου του εντέρου με εντεροϊό που σχετίζεται με ΣΔ1 (π.χ. Coxsackie b4) και η διάσπαση του βραχίονα του UPR που μοιάζει με PKR τύπου κινάσης ER (PERK), θα μπορούσε να οδηγήσει σε ΣΔ1. [142]

Όσον αφορά την εμπλοκή των NK κυττάρων στο ΣΔ1, οι Dotta et. al. ανέφεραν ότι η μόλυνση β-κυττάρων με Enterovirus Coxsackie B4 συσχετίστηκε με διήθηση κυττάρων NK των παγκρεατικών νησιδίων σε τρεις από τους έξι ασθενείς με πρώιμο ΣΔ1 [142]. Επίσης, μέσω πειραμάτων στο μοντέλο ποντικού NOD, οι Brauner et al έχουν παρατηρήσει ότι η διήθηση κυττάρων NK της ενδοκρινούς και εξωκρινούς μοίρας παγκρέατος ήταν παρούσα σε μικρή ηλικία και προηγείτο της διήθησης των T-κυττάρων [146].

Ο ΣΔ1 είναι το αποτέλεσμα της αυτοάνοσης καταστροφής των β-κυττάρων που εκκρίνουν ινσουλίνη και διαμεσολαβείται από αυτοαντιδραστικά T κύτταρα και ελέγχεται από τα T ρυθμιστικά κύτταρα (Tregs) [145]. Τα CD4 + Tregs χαρακτηρίζονται από την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα FOXP3 [145]. Τα Tregs διατηρούν την περιφερική ανοχή στα αυτοαντιγόνα ελέγχοντας την ενεργοποίηση και την επέκταση των αυτοαντιδρώντων T κυττάρων [145].

Η σηματοδότηση της πρωτεΐνης PERK φαίνεται να είναι απαραίτητη για την προστασία έναντι του ΣΔ1. Τα Perk knockout ποντίκια και οι άνθρωποι με σύνδρομο Wolcott-Rallison που έχουν μεταλλάξεις στο γονίδιο EIF2AK3 το οποίο κωδικοποιεί PERK, αναπτύσσουν σοβαρή μορφή σακχαρώδους διαβήτη. [142]

Η ταυτοποίηση διαφόρων γενετικών πολυμορφισμών που συνδέονται με ΕΚ και ΣΔ1 δείχνουν κοινές παθογόνες οδούς και με το AIDS. Η επικάλυψη των γενετικών τόπων με ένα ρόλο στην ανοσοαπόκριση, ειδικά για το ΣΔ1, υποδηλώνει την εμπλοκή μηχανισμών που σχετίζονται με τον ανοσοποιητικό μηχανισμό, όπως αυτοί που μεσολαβούνται από την οδό IL-18. Επιπλέον, ο αποκλίνων ρόλος που έχουν τα συγκεκριμένα SNPs στην ΕΚ έναντι του ΣΔ1 θα μπορούσε να εξηγηθεί από το φαινόμενο γενετικού μετασχηματισμού άλλων παραγόντων, όπως το εντερικό μικροβίωμα και συγκεκριμένες κυτταρικές αποκρίσεις (Εικόνα 1.12)

Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία συμβάλλει στην ανοσολογική δυσλειτουργία με την έκκριση φλεγμονωδών αδιποκινών από λιπώδεις ιστούς όπως ο TNF- α , IL6 και η λεπτίνη [131]. Οι φλεγμονώδεις αδιποκίνες επάγουν καρκινογόνους μηχανισμούς όπως ο αυξημένος κυτταρικός πολλαπλασιασμός ή και η αποδιαφοροποίηση, που είναι δυνητικοί παράγοντες κινδύνου για καρκίνους όπως του παχέος εντέρου, οισοφάγου και ηπατοκυτταρικού καρκίνου. Ο ενδοκοιλιακός λιπώδης ιστός εκκρίνει αδιποκίνη με αθηρογόνες ιδιότητες (IL-1, IL-6, TNF- α και IFN α), οι οποίες αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων. Αυτές οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες ενεργοποιούν επίσης ορισμένες κινάσες, αρχίζουν την έκφραση φλεγμονωδών και λιπογενών γονιδίων, αυξάνοντας τελικά τη φλεγμονή και την λιπογένεση. [131]

Η μεταβληθείσα λειτουργία του βλεννογονικού φραγμού λόγω της μειωμένης έκφρασης των πεπτιδίων τύπου 1 και 2 (GLP-1 και GLP-2) οδηγεί σε αλλοιωμένη λειτουργία του βλεννογόνου και μειωμένη σύνθεση των σφιγμένων πρωτεϊνών σύνδεσης Zonula Occludin-1 και Zonula Occludin-2 (ZO-1, ZO2),

αυξάνοντας την διαπερατότητα του εντέρου. Αυτό επιτρέπει στον LPS να εισέλθει στη συστηματική κυκλοφορία προκαλώντας την απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτοκινών. Οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες καταλήγουν στην ενεργοποίηση μιας οικογένειας κινασών JNK και IKK (αναστολέας κινάσης NFκB) που αυξάνουν την έκφραση φλεγμονωδών κυτοκινών και λιπιδίων .[131]

Για να διερευνηθεί η υπόθεση ότι η γενετική του ξενιστή μπορεί να επηρεάσει μικροβιακή λιπαρότητα έχουν αναλυθεί υποψήφια γονίδια και επιλέχθηκαν μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs) συσχετιζόμενα με παχυσαρκία. Η ισχυρότερη συσχέτιση μεταξύ γονότυπου ξενιστή και σχετιζόμενων με την λιπαρότητα θρεπτικών μικροβιακών λειτουργικών ταξινομικών μονάδων (OTUs) παρατηρήθηκε μεταξύ μίας OTU εντός της σειράς Clostridiales (Greengenes OTU 181702) και μιας γενετικής παραλλαγής ξενιστή εντός ενός ιντρονίου του γονιδίου FHIT (rs74331972 με OTU 181702) .[132]

Το FHIT κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ιστιδίνη και έχει συνδεθεί με καρκίνους του πεπτικού συστήματος. Ο σημαντικότερος συσχετισμός FHIT ελήφθη με το OTU 181702 που σχετίζονταν σημαντικά με SFM (υποδόρια λιπαρή μάζα) και VFM (σπλαχνική λιπαρή μάζα).[132]

Ο δεύτερος σημαντικός γενετικός συσχετισμός μεταξύ παραλλαγών ήταν κοντά στο γονίδιο TDRG1 (SNP rs1433723, $P=4.32 \times 10^{-06}$) με Clostridiales OTU, το οποίο αναγνωρίστηκε ως σημαντικά συνδεδεμένο με VFM ($P=4.97 \times 10^{-07}$). [132]

Η τελική σημαντική γενετική συσχέτιση παρατηρήθηκε σε μια παραλλαγή σε ένα ιντρόνιο του γονιδίου ELAVL4 (rs2480677, $P=4.95 \times 10^{-06}$), με Blautia OTU, 194733 και προσδιορίστηκε ως σημαντικά συνδεδεμένο με VFM ($P=1.27 \times 10^{-07}$), SFM ($P=2.26 \times 10^{-06}$) .[132]

3.Μελλοντικές προοπτικές: από το προσωπικό μικροβίωμα στις εξατομικευμένες θεραπείες

Η πιθανή συμβολή του μικροβιώματος στην παθογένεση των μεταβολικών νοσημάτων και στις κλινικές εκδηλώσεις, σε συνδυασμό με την ευμεταβλητότητά του, το καθιστούν ελκυστικό ως θεραπευτικό στόχο για τη διάγνωση και τη θεραπεία των χαρακτηριστικών των μεταβολικών νοσημάτων.

Ωστόσο, υπάρχουν περιορισμοί σήμερα για την ευρεία ενσωμάτωση και την τροποποίηση του μικροβιώματος. Το μικροβίωμα μεταβάλλεται πολύ μεταξύ των ατόμων. Έτσι, ο ακριβής χαρακτηρισμός του σε ένα άτομο συχνά συγχέεται με αλλαγές στη σύνθεση που προκαλούνται από φάρμακα, την ηλικία ακόμη και από την ώρα της ημέρας όπου συλλέγεται ένα δείγμα. [146]

Συγκεκριμένα, η σημασία της χρήσης φαρμάκου λειτουργεί ως πιθανή σύγχυση στην ανάλυση μικροβιώματος των ασθενών με μεταβολικών νοσημάτων παρουσιάστηκε πρόσφατα από τους Forslund et al. [147], αναφέροντας ένα ανατρεπτικό αποτέλεσμα της μετορμίνης χαρακτηρίζοντας το μικροβίωμα ως διαβητικό σε ασθενείς.

Επιπλέον, η ίδια η διατροφή είναι ένας ισχυρός οδηγός στις μεταβολές του μικροβιώματος, ένα χαρακτηριστικό που παρατηρείται και σε εξατομικευμένες διατροφικές παρεμβάσεις. Αυτό μπορεί να θέσει σε κίνδυνο μακροπρόθεσμα τις διατροφικές συστάσεις με βάση το μικροβίωμα, καθώς απαιτούνται επαναλαμβανόμενες περιοδικές δειγματοληψίες, προσαρμογή των διατροφικών συστάσεων βάσει της επικαιροποιημένης διατροφικής ρουτίνας του ασθενούς, αλλά και σχετική διαμόρφωση μικροβιώματος.[148]

Επιπλέον, όταν αναπτύσσονται τα μέσα της μικροβιακής τροποποίησης για τη θεραπεία των χαρακτηριστικών των μεταβολικών νοσημάτων, τα

αποτελεσμάτα που δεν σχετίζονται με την υγεία του ξενιστή πρέπει να λαμβάνονται υπόψη. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει έναν ευεργετικό ρόλο για μια μεγαλύτερη μικροβιακή βιοποικιλότητα (αλφα-ποικιλομορφία) διατηρώντας υγιές σωματικό βάρος και την ομοιόσταση γλυκόζης [148] ενώ μειώνεται η ποικιλομορφία όταν συνδέεται για παράδειγμα με τις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου (IBD).

Έτσι, οι βασισμένες στο μικροβίωμα εξατομικευμένες δίαιτες δεν θα πρέπει να εξετάζουν μόνο τον τρόπο με τον οποίο το μικροβίωμα διαμεσολαβεί στην επίδραση της τροφής που έχει στον μεταβολισμό του ξενιστή, αλλά και τον τρόπο με τον οποίο η διατροφή μπορεί να επηρεάσει τη μικροβιακή βιοποικιλότητα και κατά συνέπεια άλλα χαρακτηριστικά της υγείας του ξενιστή.

3.1. Διατροφικές παρεμβάσεις

Οι διαιτητικές τροποποιήσεις θεωρούνται βασικές για την πρόληψη και τη θεραπεία των χαρακτηριστικών των μεταβολικών νοσημάτων. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι αυτή η προσέγγιση μπορεί να αποδώσει αποτελέσματα μακράς διάρκειας, εάν είναι προσαρμοσμένα ξεχωριστά σε κάθε άτομο. Η ενσωμάτωση των παραμέτρων με εξατομικευμένα μικροβιώματα στη διάγνωση και τον διατροφικό σχεδιασμό ατόμων με προδιάθεση ή που πάσχουν από μεταβολικά νοσήματα, αν και θεωρείται ακόμα ελκυστική για κλινική έρευνα, εξακολουθεί να βρίσκεται σε πολύ αρχικό στάδιο [148]. Παραμένουν ερωτήματα ως προς τη μακροπρόθεσμη αποτελεσματικότητα αυτής της προσέγγισης και αξίζουν μελλοντικές μελέτες με βάση τον άνθρωπο.

3.2. Μεταμόσχευση μικροβιώματος μέσω κοπράνων (FMT)

Το FMT βασίζεται στη μεταφορά του καθαρισμένου μικροβίου από τα κόπρανα ενός υγιούς δότη σε ένα άτομο με καταστάσεις σχετιζόμενες με μικροβιώματα (όπως η παχυσαρκία ή ο διαβήτης), στην οποία το μεταμοσχευμένο μικροβίωμα μπορεί να διορθώσει ή να αντικαταστήσει το

παθολογικό. Μία υποσχόμενη μελέτη που χρησιμοποιεί το FMT στα μεταβολικά νοσήματα, έχει καταδείξει ότι το μικροβίωμα που μεταμοσχεύθηκε από αδύνατους δότες σε παχύσαρκα άτομα βελτίωσε την ευαισθησία της ινσουλίνης στους ασθενείς, συνοδευόμενη από αλλοιώσεις του μικροβιώματος συμπεριλαμβανομένης της επέκτασης των παραγωγών βουτυρικού οξέος [149]. Η αποτελεσματικότητα αυτής της προσέγγισης για την αντιμετώπιση καταστάσεων που ευθύνονται για τα μεταβολικά νοσήματα απαιτεί για τεκμηρίωση επιπρόσθετες μακροπρόθεσμες κλινικές μελέτες. Μια πιθανή προειδοποίηση σε αυτή την προσέγγιση είναι η ασαφής ικανότητα του μεταμοσχευμένου μικροβιώματος να μεταβάλλει την υπάρχουσα, παθολογική μικροβιακή σύνθεση. Είναι πολύ πιθανό ότι οι παράγοντες που οδηγούν σε μικροβιακή δυσβίωση σε ένα άτομο, όπως η γενετική του ξενιστή και ο τρόπος ζωής, θα επιμείνουν ακόμη και μετά από τη FMT και αντιστέκονται ή επαναφέρουν τις μικροβιακές αλλαγές που προκαλεί η FMT πίσω στη νοσηρή κατάσταση.

3.3. Προβιοτική και πρεβιοτική διαμόρφωση στις μεταβολικές παθήσεις

Τα προβιοτικά και τα πρεβιοτικά εισήχθησαν στη ζωή μας ως συμπληρώματα ενίσχυσης της υγείας, και υπήρξαν πολλές δημοσιεύσεις σχετικά με τα ευεργετικά αποτελέσματα που έχουν όπως η βελτίωση του περιβάλλοντος του εντέρου, η ρύθμιση των λειτουργιών του ανοσοποιητικού συστήματος και η πρόληψη παθογόνων μικροβιακών λοιμώξεων. Η δράση των προβιοτικών και των πρεβιοτικών κατά της παχυσαρκίας είναι γνωστή.

Το συζευγμένο λινολεϊκό οξύ (CLA) είναι φυσικό συζευγμένο ισομερές του λινολεϊκού οξέος που απαντάται στα προερχόμενα από μηρυκαστικά γαλακτοκομικά προϊόντα και έχει αποδειχθεί ότι βοηθά την πρόληψη της καρκινώσεως του παχέος εντέρου, την αθηροσκλήρωση, καθώς και την παχυσαρκία σε ποντίκια [150].

Το προβιοτικό στέλεχος που παράγει CLA ο *Lactobacillus rhamnosus* PL60 έχει αναφερθεί ότι μειώνει την αύξηση του σωματικού βάρους και τη μάζα

λευκού λιπώδους ιστού χωρίς επίδραση στην πρόσληψη τροφής των ποντικών στους οποίους εφαρμόζεται δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά ,γεγονός που συνδέθηκε με την υψηλότερη έκφραση της μη συζευγμένης πρωτεΐνης-2, ενώ η έκφραση της συνθάσης λιπαρού οξέος καθώς και οι συγκεντρώσεις της λεπτίνης ορού και της γλυκόζης μειώθηκαν [151].

Ένα άλλο προβιοτικό στέλεχος που παράγει CLA, ο *Lactobacillus plantarum* PL62,οδήγησε επίσης σε μειωμένο σωματικό βάρος και μειωμένη συγκέντρωση γλυκόζης σε παχύσαρκους – επαγόμενους από τη διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά – ποντικούς [152].

Επιπλέον, αναφέρθηκε ότι τα προβιοτικά μειώνουν το μέγεθος των λιποκυττάρων σε διαφορετικές αποθήκες λίπους , γεγονός το οποίο θεωρείται ως βασική παράμετρος για την αξιολόγηση των προβιοτικών κατά της παχυσαρκίας. Οι πιθανοί μηχανισμοί φαίνονται να είναι η αύξηση της απέκκρισης των ουδέτερων στερολών και των χολικών οξέων στα κόπρανα, σε συνδυασμό με μείωση της απορρόφησης των τριγλυκεριδίων , φωσφολιπιδίων καθώς και χοληστερόλης μέσω των λεμφαδένων [153].

Στο πείραμα με κύτταρα 3T3-L1 που ανήκουν σε προλιπώδη κυτταρική σειρά, έγινε επώαση με εκχύλισμα ελεύθερο κυττάρων *L. plantarum* KY1032 ,η οποία είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της αδιπογένεσης [154] αλλά και επώαση με αδιάλυτο κλάσμα από το κεφίρ γάλακτος που έχει υποστεί ζύμωση το οποίο είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της διαφοροποίησης των λιποκυττάρων. Η συμπλήρωση με *Lactobacillus paracasei* F19 είχε ως αποτέλεσμα μείωση του συνολικού σωματικού λίπους και μείωση της ποσότητας των τριγλυκεριδίων σε διαφορετικά κλάσματα λιποπρωτεϊνών σε ποντικούς που τράφηκαν με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά [155].

Επιπρόσθετα, στα ποντίκια χωρίς μικρόβια (GF) ,αλλά και στα κανονικά ποντίκια όπου χορηγήθηκε από το στόμα *L. Paracasei* F19 παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα στον ορό του τύπου 4 της αγγειοποιητίνης,ο οποίος είναι ένας

λιποπρωτεϊνικός αναστολέας της λιπάσης που ρυθμίζει την εναπόθεση λίπους σε λιποκύτταρα [156].

Η χορήγηση του *L. Paracasei* F19 και *Lactobacillus acidophilus* NCFB1748 σε GF ποντίκια είχε ως αποτέλεσμα πλούσιο αποικισμό με προβιοτικά στελέχη στον ειλέο σε σύγκριση με το κόλον και θετική ρύθμιση (up regulation) των ορμονών που ευαισθητοποιούν την ινσουλίνη, όπως η αδιψίνη και η αδιπνεκτίνη[157].

Προσθήκη με *Lactobacillus reuteri* ATCC4659 στα ελλειμματικά αρσενικά ποντίκια είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση σωματικού βάρους, αλλά και του λίπους στο ήπαρ, καθώς και αυξημένη έκφραση της τρανσφεράσης 1A καρνιτίνης παλμιτοϋλίου στο ήπαρ, υποδηλώνοντας ότι η συμπλήρωση με προβιοτικό ενεργοποιεί την ηπατική β-οξειδωση [158].

Υπάρχουν ωστόσο σχετικά λίγες μελέτες που ασχολούνται με τις αλλαγές στη σύνθεση μικροβίων, η οποία προκαλείται από τη χορήγηση προβιοτικών συμπληρωμάτων αναφορικά με τις λειτουργίες κατά της παχυσαρκίας. Συμπλήρωση των ποντικών με *L. rhamnosus* GG και *Lactobacillus sakei* NR28 έδειξε τη μείωση στη σχετική αφθονία των Firmicutes και Clostridium cluster XIVa στο λεπτό έντερο και είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση στην πρόσληψη βάρους, στη μάζα του λίπους και στην έκφραση ενζύμων λιπογένεσης όπως η ηπατική στεατοϋλο- CoA δεσατουράση-1, η συνθάση λιπαρού οξέος και η ακετυλο-CoA καρβοξυλάση. Όμως η συμπλήρωση με *L. acidophilus* NCDC13 στους παχύσαρκους - από τη διατροφή- ποντικούς αύξησε τον αριθμό των συνολικών Bifidobacteria στα περιεχόμενα του τυφλού και των κοπράνων, ενώ η εναπόθεση λίπους δεν μειώθηκε [159].

Σε άλλη μελέτη, ο από του στόματος εμβολιασμός με το *Lactobacillus ingluviæ* αύξησε τη συνολική ποσότητα των κοπράνων με *Lactobacillus* spp. και Firmicutes σε ποντικούς και είχε ως αποτέλεσμα αυξημένο σωματικό βάρος, αύξηση στο βάρος του ήπατος και αύξηση στο μεταβολισμό [160].

Σε υγιή υπέρβαρα άτομα, η από του στόματος χορήγηση *Lactobacillus gasseri* SBT2055 συνοδεύεται από μείωση των κοιλιακού σπλαγχνικού λίπους και του υποδόριου λίπους [161]. Συμπλήρωση του *L. rhamnosus* GG σε βρεφική φόρμουλα για έξι μήνες είχε ως αποτέλεσμα καλύτερη ανάπτυξη αλλά και υψηλότερη πρόσληψη βάρους, ενώ σε μια μελέτη παρακολούθησης, η προγεννητική και η μεταγεννητική χορήγηση του *L. rhamnosus* GG παρεμπόδιζε την υπερβολική αύξηση βάρους στα παιδιά [162].

Γενικά, οι φυσιολογικές επιδράσεις των προβιοτικών σε ανθρώπινα δείγματα φαίνονται να είναι ειδικό μέρος.

Η από του στόματος χορήγηση του *Clostridium butyricum* MIYARI 588, ένα αναερόβιο που παράγει βουτυρικό οξύ, έχει επίσης αποδειχθεί ότι μειώνει την εξέλιξη της NAFLD σε ποντικούς με στεάτωση προκαλούμενη από τη διατροφή [163].

Η συμπλήρωση με το VSL # 3, το οποίο είναι το πιο υψηλά συμπυκνωμένο προβιοτικό συμπλήρωμα που διατίθεται με οκτώ διαφορετικά φυσικά στελέχη των "καλών" βακτηριδίων, μεσολαβεί τόσο στη βελτίωση της επαγόμενης από τη διατροφή στεάτωσης που εξαρτάται από τα T φυσικά κύτταρα φονείς όσο και στη σηματοδότηση της ηπατικής ινσουλίνης, με αποτέλεσμα τη βελτιωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη [164]. Επιπλέον μειώνεται η δραστηριότητα της κινάσης c-jun και η ηπατική λιπογένεση σε ποντίκια ob / ob με έλλειψη λεπτίνης.

Στα apoE-ελλειμματικά ποντίκια, το VSL # 3 βελτιώνει την αντίσταση στην ινσουλίνη, προλαμβάνει την ανάπτυξη ιστολογικών αλλοιώσεων του μεσεντέριου λιπώδους ιστού, τη φλεγμονή των ιστών και τη στεατοηπατίτιδα ενώ μειώνει την έκταση των αορτικών πλακών.[165]

Σε άλλη μελέτη, το VSL # 3 δοκιμάστηκε στο ήπαρ νεαρών ποντικών με φλεγμονώδη και οξειδωτική -επαγόμενη με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε

λιπαρά- βλάβη όπου και πάλι τα προβιοτικά εμπόδισαν την αύξηση των δεικτών φλεγμονής σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου .

Συνολικά, αυτές οι μελέτες υποδεικνύουν ότι, τουλάχιστον σε προκλινικό επίπεδο, διάφορα προβιοτικά μπορεί να βελτιώσουν τη λιπώδη ηπατική νόσο.

Ένα από τα πιο μελετημένα προβιοτικά συμπληρώματα είναι η ινουλίνη, προερχόμενη από φυτά, και συναφείς ενώσεις όπως φρουκτοολιγοσακχαρίτες, οι οποίοι έχουν διαφορετικούς βαθμούς πολυμερισμού φρουκτόζης. Η ινουλίνη ενισχύει ειδικά την ανάπτυξη των bifidobacteria, η οποία συνδυάζεται με τη μείωση στην πρόσληψη του σωματικού βάρους, τη βελτίωση της ομοιόστασης της γλυκόζης, καθώς και με τη σχετιζόμενη με την παχυσαρκία φλεγμονή που ονομάζεται μεταβολική ενδοτοξιναιμία .

Αλληλούχιση των μικροβίων του εντέρου ob /ob ποντικών που τράφηκαν με πρεβιοτική ολιγοφρουκτόζη έδειξαν αλλαγές στο μικροβιακό έντερο σε περισσότερα από 100 είδη, από τα οποία 16 εμφάνισαν περισσότερες από 10 φορές αλλαγές στην αφθονία. Ένα από τα ταυτοποιημένα είδη ήταν το *A. Muciniphila*, το οποίο συσχετίζεται αρνητικά με το σωματικό βάρος [166].

Μια σημαντική επίδραση της προσθήκης ινουλίνης φαίνεται να είναι η επιρροή στην παραγωγή γαστρεντερικών ορμονών όπως το (GLP-1), το πεπτίδιο YY (PYY), η γκρελίνη και άλλες σχετικές πεπτιδικές ορμόνες μέσω μικροβιακών μεταβολών τόσο σε αρουραίους, όσο και σε ανθρώπους.[168] Αυτές οι ορμόνες ρυθμίζουν διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες όπως την έκκριση ινουλίνης μέσω της ινκρετίνης και της γαστρεντερικής κινητικότητας, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτές οι λειτουργίες μπορούν να συμβάλλουν στην πιθανότητα των πρεβιοτικών κατά της παχυσαρκίας. Στην πραγματικότητα, η παραγωγή μικροβίων των SCFA έχει προταθεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην αύξηση έκκριση ορμονών εντέρου όπως GLP-1 [168].

Άλλες μελέτες έχουν επίσης δείξει ότι οι πρεβιοτικές ίνες μειώνουν την αναλογία του Firmicutes σε Bacteroidetes σε παχύσαρκους αρουραίους και

βελτιώνουν τη NAFLD μειώνοντας την ηπατική de novo λιπογένεση[167]. Η προσθήκη της μυκητιακής γλυκάνης χιτίνης αυξάνει τον αριθμό βακτηρίων που σχετίζονται με το σύμπλεγμα Clostridium XIVa συμπεριλαμβανομένης της Roseburia spp., η οποία συνοδεύεται από μειωμένη αύξηση βάρους και ανάπτυξη λίπους . Αναφέρεται επίσης ότι οι αραβινοξυλάνες που προέρχονται από σιτάρι αποκαθιστούν τον αριθμό του Bacteroides / Prevotella spp. ,αλλά και του Roseburia spp. ,ωστόσο αυξάνουν σημαντικά τον αριθμό των Bifidobacterium spp., και συγκεκριμένα το Bifidobacterium animalis lactis, που περιέχεται στο τυφλό των ποντικών που τρέφονται με δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά [169].

Η συμπλήρωση της διατροφής με ινουλίνη αυξάνει τα Bifidobacterium spp. και F. Prausnitzii ,ενώ μειώνει τα Bacteroides intestinalis, Bacteroides vulgates και Propionibacterium σε παχύσαρκες γυναίκες .Επιπλέον,η κατανάλωση γαλακτοολιγοσακχαριτών για 12 εβδομάδες αύξησε αρκετούς τύπους Bifidobacterium spp. και μείωσε τον αριθμό των Bacteroides σε υγιή άτομα .[170]

4. Συμπεράσματα

Ο αυξημένος επιπολασμός της παχυσαρκίας και νοσημάτων που σχετίζονται με την παχυσαρκία, όπως ο διαβήτης, η αθηροσκλήρωση και η NAFLD, αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα για την υγειονομική περίθαλψη σε ολόκληρο τον κόσμο. Η διατροφική συνήθεια και ο τρόπος ζωής φαίνεται να είναι καθοριστικοί παράγοντες επηρεάζοντας την ανάπτυξη και την εξέλιξη της παχυσαρκίας. Οι πρόσφατες μελέτες έχουν αποδείξει ότι το εντερικό μικροβίωμα μπορεί να σχετίζεται με την ανάπτυξη αυτών των μεταβολικών διαταραχών. Η αύξηση των επιπέδων LPS στον ορό, που ορίζεται ως μεταβολική ενδοτοξιναιμία, εμφανίζεται σε άτομα με παχυσαρκία και αποδεικνύει ότι συγκεκριμένα μικροβιακά συστατικά του εντέρου μπορεί να προκαλέσουν μεταβολικές διαταραχές. Τα πειράματα σε ζώα έδειξαν σαφώς ότι το εντερικό μικροβίωμα επηρεάζει επίσης τον μεταβολισμό ενέργειας του ξενιστή. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι ορισμένοι βακτηριακοί μοριακοί στόχοι που εμπλέκονται στον έλεγχο της παχυσαρκίας και των παθήσεων που σχετίζονται με την παχυσαρκία, μπορούν να εντοπιστούν. Πολλές μελέτες έχουν αναφέρει τη διαφορά στη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος μεταξύ παχύσαρκων και αδύνατων ατόμων, τόσο σε ζωικά μοντέλα όσο και σε ανθρώπους. Ωστόσο, δεν μπορούμε να συμπεράνουμε ότι αυτή τη στιγμή συγκεκριμένα γένη, τάξεις ή είδη μικροβίων του εντέρου είναι πάντα θετικά ή αρνητικά συσχετισμένα με τον παχύσαρκο φαινότυπο. Ως εκ τούτου, απαιτούνται πιο ελεγχόμενες μελέτες σε ανθρώπους και ζώα για τη διευκρίνιση αυτών των σύνθετων ζητημάτων. Συνδυασμός από μεταγονιδιωματικές, μεταγραφικές και μεταβολικές αναλύσεις θα μπορούσε να διασαφηνίσει περαιτέρω τη μοριακή βάση των μεταβολικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροβίων του εντέρου και της φυσιολογίας του ξενιστή. Αυτή η προσέγγιση σε συνδυασμό με μελέτες με κατάλληλα ζωικά μοντέλα, θα

συμβάλουν στην περαιτέρω κατανόηση των λειτουργιών των διακριτών μικροβιακών ομάδων ή μεμονωμένων ειδών του μικροβίου του εντέρου και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των προβιοτικών και προβιοτικών προσεγγίσεων στον έλεγχο της παχυσαρκίας και των ασθενειών που σχετίζονται με την παχυσαρκία στον άνθρωπο.

Βιβλιογραφία :

1. Alonso V.R. & Guarner F. (2013) 'Linking the gut microbiota to human health' *British Journal of Nutrition* 109; S21–S26
2. Angelakis E., Armougom F., Million M., Raoult D. (2012) 'The relationship between gut microbiota and weight gain in humans' *Future Microbiol.* 7(1); 91–109
3. Shen J., Obin M.S., Zhao L.(2013) 'The gut microbiota, obesity and insulin resistance' *Molecular Aspects of Medicine* 34;39–58
4. Xu Z. & Knight R. (2015) 'Dietary effects on human gut microbiome diversity' *British Journal of Nutrition* 113; S1–S5
5. Butel M.J. (2014) 'Probiotics, gut microbiota and health', *Médecine et maladies infectieuses* 1–8
6. Jeffery I.B. and O'Toole P.W. (2013) «Diet-Microbiota Interactions and Their Implications for Healthy Living» *Nutrients* 5;234-252
7. Cresci G.A. and Bawden E. (2015) 'Gut Microbiome: What We Do and Don't Know', *Nutrition in Clinical Practice* Volume 30; Number 6
8. Jandhyala S.M., Talukdar R., Subramanyam C., Vuyyuru H., Sasikala M., Reddy D.N. (2015) 'The role of the normal gut microbiota' *World J Gastroenterol* 7; 21(29): 8787-8803
9. Μεντής Α-Φ.Α., Γύπας Φ., Μεντής Α.Φ. (2013) «Ανθρώπινο μικροβίωμα του εντέρου. Ο ρόλος του στην υγεία και στη νόσο», *Αρχαία Ελληνικής Ιατρικής*, 30(3):272-288
10. Ravcheev D. & Thiele I. (2014) 'Systematic genomic analysis reveal the complementary aerobic and anaerobic respiration capacities of the human gut microbiota' *Frontiers in Microbiology* Vol 5;Article 674
11. Ianiro G., Bruno G., Lopetuso L., Beghella F. B. , Laterza L., D'Aversa F., Giate G., Cammarota G.and Gasbarrini A. (2014) 'Role of Yeasts in Healthy and Impaired Gut Microbiota: The Gut Mycome' *Current Pharmaceutical Design*

12. Yang T., Owen J.L., Lightfoot Y.L., Kladde M.P., Mohamadzadeh M. (2013) 'Microbiota impact on the epigenetic regulation of colorectal cancer' *Trends Mol Med.* 19(12)
13. Rodríguez J.M., Murphy K., Stanton C., Ross R.P., Kober O.I., Juge N., Avershina E., Rudi K., Narbad A., Jenmalm M.C., Marchesi J.R. and Collado M.C. (2015) 'The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life', *Microbial Ecology in Health & Disease* 26: 26050
14. Riiser A. (2015) 'The human microbiome, asthma, and allergy' *Clin Immunol* 11:35
15. Vaahtovuori, J., Toivanen, P., Eerola, E. (2001) 'Study of murine faecal microflora by cellular fatty acid analysis; effect of age and mouse strain.' *Antonie Van Leeuwenhoek*; 80(1), 35-42
16. Avershina E., Storrø O., Øien T., Johnsen R., Pope P., Rudi K. (2013) 'Major faecal microbiota shifts in composition and diversity with age in a geographically restricted cohort of mothers and their children' *Federation of European Microbiological Societies Microbiol Ecol* 87; 280–290 Narayan N.R., Méndez-Lagares G., Ardeshir A., Lu D., Rompay K.A.V., Hartigan O'Connor D.J. (2015) 'Persistent effects of early infant diet and associated microbiota on the juvenile immune system' *Gut Microbes* 6:4;284-289
17. David L.A., Maurice C.F., Carmody R.N., Gootenberg D.B., Button J.E., Wolfe B.E., Ling A.V., Devlin A.S., Varma Y., Fischbach M.A., Biddinger S.B., Dutton R.J., Turnbaugh P.J. (2014) 'Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome' *Nature* 505(7484): 559–563
18. De Filippis F., Pellegrini N., Vannini L., Jeffery IB, La Stora A., Laghi L., Serrazanetti D.I., Di Cagno R., Ferrocino I., Lazzi C., Turrone S., Cocolin L., Brigidi P., Neviani E., Gobetti M., O'Toole P.W., Ercolini D. (2015) 'High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome' *Gut*. pii: gutjnl-2015309957
19. Dominianni C., Sinha R., Goedert J.J. , Pei Z., Yang L., Hayes R.B, Ahn J. (2015) 'Sex, Body Mass Index, and Dietary Fiber Intake Influence the Human Gut Microbiome' *Plos One Journal*.pone.0124599; DOI:10.1371
20. Engen P.A., Green S.J., Voigt R.M., Forsyth C.B. and Keshavarzian A. (2015) 'Alcohol Effects on the Composition of Intestinal Microbiota' *The Gastrointestinal Microbiome*
21. Conlon M.A. & Bird A.R. (2015) 'The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health' *Nutrients* 7;17-44

22. Clarke S.F., Murphy E.F., O'Sullivan O., Lucey A.J., Humphreys M., Hogan A., Hayes P., O'Reilly M., Jeffery I.B., Wood-Martin R., Kerins D.M., Quigley E., Ross R.P., O'Toole P.W., Molloy M.G., Falvey E., Shanahan F., Cotter P.D. (2014) 'Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity' *Gut* 63:1913–1920
23. Arslan N. (2014) 'Obesity, fatty liver disease and intestinal microbiota' *World J Gastroenterol* 20(44): 16452-16463
24. Eslinger A.J., Eller L.K., Reimer R.A. (2014) 'Yellow pea fiber improves glycemia and reduces *Clostridium leptum* in diet-induced obese rats' *Nutrition research* 34;714-722
25. Damms-Machado A., Mitra S., Schollenberger A.E., Kramer K.M., Meile T., Königsrainer A., Huson D.H. & Bischoff S.C. (2015) 'Effects of Surgical and Dietary Weight Loss Therapy for Obesity on Gut Microbiota Composition and Nutrient Absorption' Hindawi Publishing Corporation *BioMed Research International* Volume Article ID 806248
26. Ley R.E. (2010) 'Obesity and the human microbiome' *Current Opinion in Gastroenterology* 26:5–11
27. Rosenbaum M., Knight R., and Leibel R.L. (2015) 'The gut microbiota in human energy homeostasis and obesity' *Trends in Endocrinology and Metabolism* Vol. 26;
28. Kasai C., Sugimoto K., Moritani I., Tanaka J., Oya Y., Inoue H., Tameda M., Shiraki K., Ito M., Takei Y., Takase K. (2015) 'Comparison of the gut microbiota composition between obese and non-obese individuals in a Japanese population, as analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism and next-generation sequencing' *BMC Gastroenterology* 15:100
29. Schwartz A., Taras D., Schäfer K., Beijer S., Bos N.A., Donus C. and Hardt P.D. (2009) 'Microbiota and SCFA in Lean and Overweight Healthy Subjects' *Obesity* 18; 190–195
30. Duncan S.H., Lobley G.E., Holtrop G., Ince J., Johnstone A.M., Louis P., Flint H.J. (2008) «Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss» *International Journal of Obesity* 32;1720–1724
31. Chakraborti C.K. (2015) 'New-found link between microbiota and obesity' *World J Gastrointest Pathophysiol* 6(4): 110-119
32. Remely M., Tesar I., Hippe B., Gnauer S., Rust P., Haslberger A.G. (2015) 'Gut microbiota composition correlates with changes in body fat content due to weight loss' *Beneficial Microbes* 6(4): 431-439

33. Backhed F, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(44):15718–15723.
34. Ferraris RP, Vinnakota RR. Intestinal nutrient transport in genetically obese mice. *Am J Clin Nutr*. 1995;62 (3):540–546.
35. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444(7122):1027–1031.
36. Murphy EF, et al. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models. *Gut*. 2010;59(12):1635–1642.
37. Ley, R.E., Backhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone, C.A., Knight, R.D., Gordon, J.I., 2015. Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:11070e
38. Ussar, S., Griffin, N.W., Bezy, O., Fujisaka, S., Vienberg, S., Softic, S., et al., 2015. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet modulate the predisposition to obesity and metabolic syndrome. *Cell Metabolism* 22:516e530.
39. Dao, M.C., Everard, A., Aron-Wisnewsky, J., Sokolovska, N., Prifti, E., Verger, E.O., et al., 2016. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut* 65:426e436.
40. Schneeberger, M., Everard, A., Gomez-Valades, A.G., Matamoros, S. Ramirez, S., Delzenne, N.M., et al., 2015. *Akkermansia muciniphila* inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice. *Scientific Reports* 5:16643
41. Goodrich, J.K., Waters, J.L., Poole, A.C., Sutter, J.L., Koren, O., Blekhman, R., et al., 2014. Human genetics shape the gut microbiome. *Cell* 159:789e799.
42. Chong, C.W., Ahmad, A.F., Lim, Y.A., Teh, C.S., Yap, I.K., Lee, S.C., et al., 2015. Effect of ethnicity and socioeconomic variation to the gut microbiota composition among pre-adolescent in Malaysia. *Scientific Reports* 5:13338
43. Kempainen, K.M., Ardisson, A.N., Davis-Richardson, A.G., Fagen, J.R., Gano, K.A., Leon-Novelo, L.G., et al., 2015. Early childhood gut microbiomes
44. Zhernakova, A., Kurilshikov, A., Bonder, M.J., Tigchelaar, E.F., Schirmer, M., Vatanen, T., et al., 2016. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science* 352:565e569.

45. Ussar, S., Griffin, N.W., Bezy, O., Fujisaka, S., Vienberg, S., Softic, S., et al.,2015. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet modulate the predisposition to obesity and metabolic syndrome. *Cell Metabolism* 22:516e530.
46. Heiman, M.L., Greenway, F.L., 2016. A healthy gastrointestinal microbiome is dependent on dietary diversity. *Molecular Metabolism* 5:317e320.
47. Velagapudi VR, Hezaveh R, Reigstad CS, et al. The gut microbiota modulates host energy and lipid metabolism in mice. *J Lipid Res* 2010; 51:1101 –1112.
48. Everard A, Belzer C, Geurts L,et al.Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110:9066–9071.
49. Fu J, Bonder MJ, Cenit MC, et al.The gut microbiome contributes to a substantial && proportion of the variation in blood lipids. *Circ Res* 2015; 117:817–824.
50. Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102: 11070-75.
51. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R, Gordon JI. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457: 480-4
52. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, Al-Soud WA, Sørensen SJ, Hansen LH, Jakobsen M. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One* 2010; 5: e9085.
53. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444: 1027-31.
54. Furet JP, Kong LC, Tap J, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL, Mariat D, Corthier G, Doré J, Henegar C, Rizkalla S, Clément K. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers.*Diabetes* 2010; 59: 3049-57.
55. Ley, R. E. et al. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 102, 11070–11075 (2011).
56. Bevins and Salzman, et al 2011;The potter’s wheel :the host’s role in sculpting its microbiota *Cell Mol Life Sci* 68
57. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012; 143:913–916.

58. Qin, J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464, 59–65 (2010).
59. Lee P.H., Macfarlane D.J., Lam T.H. & Stewart S.M. (2011) ‘Validity of the international physical activity questionnaire short form (IPAQ-SF): A systematic Review’ *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity* 8:115
60. Wu, G. D. et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 334, 105–108 (2011).
61. Hansen MB Pan genome of the dominant human gut-associated Achaea *Methanobrevibacter smithii* studied in twins et al. *Chembiochem.* (2011)
62. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science* 2013; 341:1241214.
63. Zeevi, D. et al. Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses. *Cell* 163, 1079-1094, doi:10.1016/j.cell.2015.11.001 (2015).
64. Human Microbiome Project, C. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 486, 207-214 (2012).
65. Goodrich, J. K. et al. Human genetics shape the gut microbiome. *Cell* 159,789-799 (2014).
66. Gilbert, J. A. et al. Microbiome-wide association studies link dynamic microbial consortia to disease. *Nature* 535, 94-103, (2016).
67. Sonnenburg, J. L. & Backhed, F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature* 535, 56-64, (2016).
68. Qin, J. et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 490, 55-60 (2012).
69. Boursier, J. et al. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology* 63, 764-775, doi:10.1002/hep.28356 (2016).
70. Zhu, W. et al. Gut Microbial Metabolite TMAO Enhances Platelet Hyper reactivity and Thrombosis Risk. *Cell* 165,111-124, (2016).
71. Zmora, N., Zeevi, D., Korem, T., Segal, E. & Elinav, E. Taking it Personally: Personalized Utilization of the Human Microbiome in Health and Disease. *Cell host & microbe* (2016).
72. Kovatcheva-Datchary, P. et al. Dietary Fiber-Induced Improvement in Glucose Metabolism Is Associated with Increased Abundance of *Prevotella*. *Cell metabolism* (2015).

73. Suez, J. et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature* 514, 181-186 (2014).
74. Rooks, M. G. & Garrett, W. S. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nature reviews. Immunology* 16, (2016).
75. Bach Knudsen, K. E. Microbial degradation of whole-grain complex carbohydrates and impact on short-chain fatty acids and health. *Advances in nutrition* (2015)
76. Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P. & Backhed, F. From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell* (2016).
77. Chambers, E. S. et al. Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut* 64, 1744-1754, doi:10.1136/gutjnl-2014-307913 (2015).
78. Kimura, I. et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nature communications* (2013).
79. Perry, R. J. et al. Acetate mediates a microbiome-brain-beta-cell axis to promote metabolic syndrome. *Nature* 534, 213-217, (2016).
80. de Aguiar Vallim, T. Q., Tarling, E. J. & Edwards, P. A. Pleiotropic roles of bile acids in metabolism. *Cell metabolism* (2013).
81. Sayin, S. I. et al. Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. *Cell Metab* 17, 225-235,(2013).
82. Ridaura, V. K. et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science* 341, (2013).
83. Parseus, A. et al. Microbiota-induced obesity requires farnesoid X receptor. *Gut*, (2016).
84. Jiang, C. et al. Intestinal farnesoid X receptor signaling promotes nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of clinical investigation* 125, 386-402, (2015).
85. Fang, S. et al. Intestinal FXR agonism promotes adipose tissue browning and reduces obesity and insulin resistance. *Nature medicine* 21, 159-165, (2015)
86. Koeth, R. A. et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med* 19, 576-585, (2013).
87. Brestoff, J. R. & Artis, D. Immune Regulation of Metabolic Homeostasis in Health and Disease. *Cell* 161, 146-160, (2015).
88. Carvalho, B. et al. Modulation of gut microbiota by antibiotics improves insulin signalling in high-fat fed mice. *Diabetologia* 55, 2823-2834 (2012).

89. Caesar, R., Tremaroli, V., Kovatcheva-Datchary, P., Cani, P. D. & Backhed, F. Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling. *Cell Metab* 22, 658-668, doi:10.1016/j.cmet.2015.07.026 (2015).
90. Levy, M. et al. Microbiota-modulated metabolites shape the intestinal microenvironment by regulating NLRP6 inflammasome signaling. *Cell* 163, 1428-1443 (2015).
91. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, Koeth R, Levison BS, Dugar B, Feldstein AE, Britt EB, Fu X, Chung YM, Wu Y, Schauer P, Smith JD, Allayee H, Tang WH, DiDonato JA, Lusis AJ, Hazen SL (2011) Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 472:57–63
92. Karlsson FH, Fak F, Nookaew I, Tremaroli V, Fagerberg B, Petranovic D, Backhed F, Nielsen J (2012) Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nat Commun* 3:1245
93. Brugman S, Klatter FA, Visser JT, Wildeboer-Veloo AC, Harmsen HJ, Rosing J, Bos NA. Antibiotic treatment partially protects against type 1 diabetes in the Bio-Breeding diabetes-prone rat. Is the gut flora involved in the development of type 1 diabetes? *Diabetologia* 2006; 49: 2105-8.
94. Calcinaro F, Dionisi S, Marinaro M, Candeloro P, Bonato V, Marzotti S, Corneli RB, Ferretti E, Gulino A, Grasso F, De Simone C, Di Mario U, Falorni A, Boirivant M, Dotta F. Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Diabetologia* 2005; 48: 1565-75.
95. King C, Sarvetnick N. The incidence of type-1 diabetes in NOD mice is modulated by restricted flora not germfree conditions. *PLoS One* 2011; 6: e17049.
96. Roesch LF, Lorca GL, Casella G, Giongo A, Naranjo A, Pionzio AM, Li N, Mai V, Wasserfall CH, Schatz D, Atkinson MA, Neu J, Triplett EW. Culture-independent identification of gut bacteria correlated with the onset of diabetes in a rat model. *ISME J* 2009; 3: 536-48
97. Valladares R, Sankar D, Li N, Williams E, Lai KK, Abdelgeliel AS, Claudio F, Gonzalez, Wasserfall CH, Larkin J III, Schatz D, Atkinson MA, Triplett EW, Neu J, Lorca GL. *Lactobacillus johnsonii* N6.2 mitigates the development of type 1 diabetes in BB-DP rats. *PLoS One* 2010; 6: e10507.
98. Badami E, Sorini C, Coccia M, Usuelli V, Molteni L, Bolla AM, Scavini M, Mariani A, King C, Bosi E, Falcone M. Defective differentiation of regulatory FoxP3+ T cells

- by small-intestinal dendritic cells in patients with type 1 diabetes. *Diabetes* 2011; 60: 2120-4. 54.
99. Caricilli AM, Saad MJ. The role of gut microbiota on insulin resistance. *Nutrients* 2013; 5: 829-51. 24.
 100. Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, Cardona F, Soriguer F, Queipo-Ortuño MI. Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study. *BMC Med* 2013
 101. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, Al-Soud WA, Sørensen SJ, Hansen LH, Jakobsen M. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One* 2010; 5: e9085.
 102. Manco M, Putignani L, Bottazzo GF. Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. *Endocr Rev* 2010; 31:817-44
 103. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Cousin B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761-72.
 104. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 2008; 57: 1470-81.
 105. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A meta genome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012; 490: 55-60. 32
 106. Wang T, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, Jia W, Cai S, Zhao L. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *ISME J* 2012; 6: 320-9.
 107. Yadav H, Jain S, Sinha PR. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. *Nutrition* 2007; 23: 62-8.
 108. Elding Larsson H, Vehik K, Gesualdo P, Akolkar B, Hagopian W, Krischer J, Lernmark Å, Rewers M, Simell O, She JX, Ziegler A, Haller MJ; TEDDY Study Group. Children followed in the TEDDY study are diagnosed with type 1 diabetes at an early stage of disease. *Pediatr Diabetes* 2014; 15: 118-26.

109. Membrez M, Blancher F, Jaquet M, Bibiloni R, Cani PD, Burcelin RG, Corthesy I, Macé K, Chou CJ. Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J* 2008; 22: 2416-26.
110. Blood sugar improves with first gastrointestinal microbiome modulator, NM504 (2014, June 23)
111. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R, Gordon JI (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 457:480–484
112. Karlsson CL, Onnerfalt J, Xu J, Molin G, Ahrne S, Thorngren-Jerneck K (2012) The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight. *Obesity (Silver Spring)* 20:2257–2261
113. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, Gibson GR, Delzenne NM (2007) Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 50:2374–2383
114. Gauffin Cano P, Santacruz A, Moya A, Sanz Y (2012) *Bacteroides uniformis* CECT 7771 ameliorates metabolic and immunological dysfunction in mice with high-fat-diet induced obesity. *PLoS One* 7:e41079
115. Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, Kanda H, Sato S, Oyadomari S, Iwakura Y, Oshima K, Morita H, Hattori M, Honda K, Ishikawa Y, Hara E, Ohtani N (2013) Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature* 499:97
116. Kim KA, Gu W, Lee IA, Joh EH, Kim DH (2012) High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PLoS One*
117. Belzer C, de Vos WM (2012) Microbes inside—from diversity to function: the case of *Akkermansia*. *ISME J* 6:1449–1458
118. de La Serre CB, Ellis CL, Lee J, Hartman AL, Rutledge JC, Raybould HE (2010) Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 299:G440–G448
119. Fei N, Zhao L (2013). An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice. *ISME J* 7:880–884

120. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojarvi J, Kootte RS, Bartelsman JF, Dallinga-Thie GM, Ackermans MT, Serlie MJ, Oozeer R, Derrien M, Druesne A, Van Hylckama Vlieg JE, Bloks VW, Groen AK, Heilig HG, Zoetendal EG, Stroes ES, de Vos WM, Hoekstra JB, Nieuwdorp M (2012) Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 143:e917
121. Chatelier E., Nielsen T., Qin J., Prifti E., Hildebrand F., Falony G., Almeida M., Arumugam M., Batto J-M., Kennedy S., Leonard P., Li J., Burgdorf K., Garup (2013) 'Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers' Vol 500; *Nature*;
122. Cotillard A., Kennedy S.P., Kong L.C., Prifti E., Pons N., Le Chatelier E., Almeida M., Quinquis B., Levenez F., Galleron N., Gougis S., Rizkalla S., Batto J-M., Renault P., Microbes consortium, Dore' J., Zucker J-D., Cle'ment K., Ehrlich S.D. (2013) 'Dietary intervention impact on gut microbial gene richness' *Nature* Vol 500; 58525
123. Bakker G.J., Zhao J., Herrema, H., Nieuwdorp M. (2015) 'Gut Microbiota and Energy Expenditure in Health and Obesity' *J Clin Gastroenterol* 49:S13–S19 12
124. Antunes B.M., Monteiro P.A., Silveira L.S., Brunholi C.C., Lira F.S., Júnior I.F.F. (2015) 'Macronutrient intake is correlated with dyslipidemia and low-grade inflammation in childhood obesity but mostly in male obese' *Nutr Hosp.*
125. Hersoug L.-G, Møller P., Loft S. (2015) 'Gut microbiota-derived lipopolysaccharide uptake and trafficking to adipose tissue: implications for inflammation and obesity' *World Obesity*
126. Cani P.D. & Delzenne N.M. (2011) 'The gut microbiome as therapeutic target' *Pharmacology & Therapeutics* 130;202–212
127. Muccioli GG, et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol Syst Biol.* 2010;6:392.
128. de La Serre CB, Ellis CL, Lee J, Hartman AL, Rutledge JC, Raybould HE. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2010;299(2):G440–G448. .
129. Wlodarska M, et al. Antibiotic treatment alters the colonic mucus layer and predisposes the host to exacerbated citrobacter rodentium-induced colitis. *Infect Immun.* 2011; 79(4):1536–1545.

130. Brignardello J, Morales P, Diaz E, Romero J, Brunser O, Gotteland M. Pilot study: alterations of intestinal microbiota in obese humans are not associated with colonic inflammation or disturbances of barrier function. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;32 (11–12):1307–1314.
131. Moschen AR, Kaser S, Tilg H (2013) Non-alcoholic steatohepatitis: a microbiota-driven disease. *Trends Endocrinol Metab* 24:537–545
132. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R (2008) Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 57:1470–1481
133. Swann JR, Want EJ, Geier FM, Spagou K, Wilson ID, Sidaway JE, Nicholson JK, Holmes E (2011) Systemic gut microbial modulation of bile acid metabolism in host tissue compartments. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:4523–4530
134. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, Masciana R, Forgione A, Gabrieli ML, Perotti G, Vecchio FM, Rapaccini G, Gasbarrini G, Day CP, Grieco A (2009) Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 49:1877–1887
135. Verdam FJ, Rensen SS, Driessen A, Greve JW, Buurman WA (2011) Novel evidence for chronic exposure to endotoxin in human nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 45:149–152
136. Spencer MD, Hamp TJ, Reid RW, Fischer LM, Zeisel SH, Fodor AA (2011) Association between composition of the human gastrointestinal microbiome and development of fatty liver with choline deficiency. *Gastroenterology* 140:976–986
137. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract* 2014.
138. Tan A, Sun J, Xia N, et al. A genome-wide association and gene–environment interaction study for serum triglycerides levels in a healthy Chinese male population. *Hum Mol Genet* 2012;21:1658–64.
139. Guardiola M, Alvaro A, Vallvé J, et al. APOA5 gene expression in the human intestinal tissue and its response to in vitro exposure to fatty acid and fibrate. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012;22:756–62.
140. Schloissnig S, Arumugam M, Sunagawa S, Mitreva M, Tap J, Zhu A, et al. Genomic variation landscape of the human gut microbiome. *Nature*. 2013;
141. Huang J, Ellinghaus D, Franke A, Howie B, Li Y. 1000 Genomes-based imputation identifies novel and refined associations for the Wellcome trust case-control

- consortium Phase 1 data. *Eur. J. Hum. Genet.* 2012;20:801–805▪ Identified genetic polymorphisms associated with T1D and CD using 1000 Genomes-based imputation.
142. Wang K, Baldassano R, Zhang H, et al. Comparative genetic analysis of inflammatory bowel disease and Type 1 diabetes implicates multiple loci with opposite effects. *Hum. Mol. Genet.* 2010;19:2059–2067. ▪▪ Used genome-wide association studies to find shared genetic loci among Crohn’s disease (CD), ulcerative colitis and Type 1 diabetes (T1D). *PTPN22*, *IL27*, *IL18RAP* and *IL10* genetic loci were identified as associated with opposite disease risk effects in CD and T1D.
 143. Andersen V, Ernst A, Christensen J, et al. The polymorphism rs3024505 proximal to IL-10 is associated with risk of ulcerative colitis and Crohns disease in a Danish case-control study. *BMC Med. Genet.* 2010;11:82.
 144. Brauner H, Elemans M, Lemos S, et al. Distinct phenotype and function of NK cells in the pancreas of nonobese diabetic mice. *J. Immunol.* 2010;184:2272–2280.
 145. Kornete M, Mason ES, Piccirillo CA. Immune regulation in T1D and T2D: prospective role of FoxP3⁺ Treg cells in disease pathogenesis and treatment. *Front. Endocrinol.* 2013;4:
 146. D.C.W.Lau,B.Dhillon,H.Yan,P.E.Szmitko,S.Verma,“Adipokines:molecular links between obesity and atherosclerosis,” *American Journal of Physiology—Heart and Circulatory Physiology* ,2005.
 147. Thaiss, C. A. et al. Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis. *Cell* 159, 514-529 (2014).
 148. Forslund, K. et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature* 528, 262-266 (2015).
 149. David, L. A. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 505, 559-563, (2014)
 150. Zeevi, D. et al. Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses. *Cell* 163, 1079-1094, doi:10.1016/j.cell.2015.11.001 (2015).
 151. McDonald, D., Glusman, G. & Price, N. D. Personalized nutrition through big data. *Nature biotechnology* 34, 152-154 (2016).
 152. Vrieze, A. et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 143, 913-916. e917 (2012).
 153. Ho JN, Choi JW, Lim WC, Kim MK, Lee IY, Cho HY (2013) Kefir inhibits 3T3-L1 adipocyte differentiation through down-regulation of adipogenic transcription factor expression. *J Sci Food Agric* 93:485–490PubMedGoogle Scholar

154. Aronsson L, Huang Y, Parini P, Korach-Andre M, Hakansson J, Gustafsson JA, Pettersson S, Arulampalam V, Rafter J (2010) Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4). *PLoS One* 5:e13087
155. Nerstedt A, Nilsson EC, Ohlson K, Hakansson J, Thomas Svensson L, Lowenadler B, Svensson UK, Mahlapuu M (2007) Administration of *Lactobacillus* evokes coordinated changes in the intestinal expression profile of genes regulating energy homeostasis and immune phenotype in mice. *Br J Nutr* 97:1117–1127
156. Fak F, Backhed F (2012) *Lactobacillus reuteri* prevents diet-induced obesity, but not atherosclerosis, in a strain dependent fashion in *Apoe*^{-/-} mice. *PLoS One*
157. Ji YS, Kim HN, Park HJ, Lee JE, Yeo SY, Yang JS, Park SY, Yoon HS, Cho GS, Franz CM, Bomba A, Shin HK, Holzapfel WH (2012) Modulation of the murine microbiome with a concomitant anti-obesity effect by *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus sakei* NR28. *Benef Microbes* 3:13–22
158. Arora T, Anastasovska J, Gibson G, Tuohy K, Sharma RK, Bell J, Frost G (2012) Effect of *Lactobacillus acidophilus* NCDC 13 supplementation on the progression of obesity in diet-induced obese mice. *Br J Nutr* 108:1382–1389
159. Angelakis E, Bastelica D, Ben Amara A, El Filali A, Dutour A, Mege JL, Alessi MC, Raoult D (2012) An evaluation of the effects of *Lactobacillus ingluviei* on body weight, the intestinal microbiome and metabolism in mice. *Microb Pathog* 52:61–68
160. Kadooka Y, Sato M, Imaizumi K, Ogawa A, Ikuyama K, Akai Y, Okano M, Kagoshima M, Tsuchida T (2010) Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 64:636–643
161. Luoto R, Kalliomaki M, Laitinen K, Isolauri E (2010) The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years. *Int J Obes (Lond)* 34:1531–1537
162. Endo H, Niioka M, Kobayashi N, Tanaka M, Watanabe T (2013) Butyrate-producing probiotics reduce nonalcoholic fatty liver disease progression in rats: new insight into the probiotics for the gut-liver axis. *PLoS One* 8:e63388
163. Ma X, Hua J, Li Z (2008) Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. *J Hepatol* 49:821
164. Mencarelli A, Cipriani S, Renga B, Bruno A, D'Amore C, Distrutti E, Fiorucci S (2012) VSL#3 resets insulin signaling and protects against NASH and

- atherosclerosis in a model of genetic dyslipidemia and intestinal inflammation. *PLoS One* 7:e45425
165. Esposito E, Iacono A, Bianco G, Autore G, Cuzzocrea S, Vajro P, Canani RB, Calignano A, Raso GM, Meli R (2009) Probiotics reduce the inflammatory response induced by a high-fat diet in the liver of young rats. *J Nutr* 139:905–911
166. Lin, H. V. et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. (2012).
167. Parnell JA, Reimer RA (2012) Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter Bacteroidetes and Firmicutes in lean and obese JCR:LA-cp rats. *Br J Nutr*
168. Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, Parker HE, Habib AM, Diakogiannaki E, Cameron J, Grosse J, Reimann F, Gribble FM (2012) Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes* 61:364–371
169. Parnell JA, Raman M, Rioux KP, Reimer RA (2012) The potential role of prebiotic fibre for treatment and management of non-alcoholic fatty liver disease and associated obesity and insulin resistance. *Liver Int* 32:701–711
170. De Vadder, F. et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell* 156, 84-96, (2014).

