

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Ανθρώπινο μικροβίωμα του εντέρου Ο ρόλος του στην υγεία και στη νόσο

Η μελέτη των μικροχλωρίδων του ανθρώπινου σώματος έχει κερδίσει και πάλι πρόσφατα το ενδιαφέρον των ερευνητών, κυρίως μετά από την ανάπτυξη της γονιδιωματικής και της σύστοιχης επιστήμης της βιο-πληροφορικής. Τα γονίδια των μικροβίων στις διάφορες κοιλότητες συνολικά αποτελούν το ανθρώπινο μικροβίωμα (AM), το οποίο είναι ένα πολύπλοκο οικοσύστημα, που εκτιμάται ότι αποτελείται από περίπου 10^{14} βακτηριακά κύτταρα. Περίπου 400–500 διάφορα γένη μικροβίων συνιστούν την εντερική μικροχλωρίδα του AM. Τα σαπροφυτικά μικρόβια του εντέρου αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, αλλά και με το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή, συμβάλλοντας στην ομοίωση του οργανισμού. Το εντερικό μικροβίωμα διαφέρει μεταξύ ατόμων του ίδιου φύλου, μεταξύ των φύλων, καθώς και μεταξύ ατόμων διαφόρων ηλικιών. Κάθε άτομο μπορεί να χαρακτηριστεί από την εντερική του μικροχλωρίδα, γεγονός που πιθανόν να είναι χρήσιμο στο μέλλον στο πλαίσιο εφαρμογής της εξατομικευμένης Ιατρικής. Μεταβολές στη σύνθεση της μικροχλωρίδας του εντέρου έχουν συσχετιστεί με σύνθετα νοσήματα, όπως οι φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου, ο ορθοκολικός καρκίνος, οι αλλεργίες και η παχυσαρκία. Η τροποποίηση της εντερικής μικροχλωρίδας με μεταμόσχευση εντερικού περιεχομένου από υγιή δότη αποτελεί αποτελεσματική και ασφαλή θεραπεία για τις φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου και τη λοίμωξη από *C. difficile*. Η χρήση όμως των προ- και προ-βιοτικών μικροοργανισμών για τη θεραπευτική τροποποίηση των εντερικών μικροχλωρίδων θα πρέπει να επανεξεταστεί υπό το πρίσμα των νέων δεδομένων. Η παρούσα ανασκόπηση θα εστιαστεί στα τελευταία δεδομένα από τη μελέτη του εντερικού ανθρώπινου μικροβιώματος σε σχέση με τη φυσιολογική ανάπτυξη του οργανισμού, με παθήσεις του εντέρου, αλλά και με παθήσεις εκτός του γαστρεντερικού συστήματος.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Την τελευταία δεκαετία, η εισαγωγή τεχνολογιών ανάπτυξης της αλληλουχίας του DNA με ακόλουθη βιο-πληροφορική επεξεργασία έχει καταστήσει δυνατό το λεπτομερή χαρακτηρισμό της μεγάλης βιοποικιλότητας των μικροχλωρίδων, της σύστασής τους, της σχέσής τους με τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού, αλλά και της εμπλοκής τους σε παθολογικές καταστάσεις. Είναι χαρακτηριστικό ότι τα τελευταία χρόνια μελέτες που αναφέρονται στις μικροχλωρίδες περιλαμβάνονται σε περιοδικά με υψηλό δείκτη απήχησης, όπως το *Nature*, το *Science* και το *Cell*, στοιχείο ενδεικτικό του επιπέδου αλλά και της σημασίας της έρευνας αναφορικά με τις ανθρώπινες μικροχλωρίδες. Δεν είναι όμως εύκολο να παρακολουθήσει κάποιος τις εξελίξεις στον τομέα αυτόν λόγω του μεγάλου όγκου των νέων δεδομένων και της πολυπλοκότητάς τους. Η παρούσα

ανασκόπηση θα επιχειρήσει να παρουσιάσει τις νεότερες εξελίξεις στη μελέτη των μικροχλωρίδων του ανθρώπου, με ιδιαίτερη έμφαση σε εκείνη του γαστρεντερικού σωλήνα, να αναλύσει τις συσχετίσεις της εντερικής μικροχλωρίδας με τη φυσιολογική λειτουργία αλλά και ποικίλες παθολογικές μεταβολές του γαστρεντερικού συστήματος, καθώς και με εξω-γαστρεντερικές παθήσεις. Επί πλέον, θα παρουσιάσουν οι θεραπευτικές προοπτικές που βασίζονται στα νέα δεδομένα. Πρέπει πάντως να σημειωθεί ότι η ταχύτητα εισαγωγής νέων δεδομένων είναι μεγάλη, με συνέπεια κάθε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας στον τομέα αυτόν να είναι καταδικασμένη να «γερνάει» γρήγορα.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ

Ο Ιπποκράτης ήδη από την αρχαιότητα είχε τονίσει ότι «η κακή πέψη είναι η ρίζα όλων των δεινών», ενώ ιστορικά

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2013, 30(3):272–288
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2013, 30(3):272–288

Α.-Φ.Α. Μεντής,¹
Φ. Γύπας,²
Α.Φ. Μεντής¹

¹Εργαστήρια Δημόσιας Υγείας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ, Αθήνα
²Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Human enteric microbiome:
Its role in health and disease

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Ανθρώπινο μικροβίωμα
Εντερική μικροχλωρίδα
Μεταγονιδιωματική

Υποβλήθηκε 18.2.2013
Εγκρίθηκε 4.3.2013

η συσχέτιση μεταξύ των μικροβίων του εντέρου και της υγείας προτάθηκε το 1907 από τον Metchnikoff, ο οποίος υπέθεσε ότι η αντικατάσταση των «σηπτικών» βακτηρίων του εντέρου από βακτήρια που παράγουν γαλακτικό οξύ θα μπορούσε να συμβάλλει στη φυσιολογική λειτουργία του εντέρου, καθώς και στην παράταση του χρόνου της ζωής. Τα μικρόβια των μικροχλωρίδων αποικίζουν σχεδόν κάθε επιφάνεια του ανθρώπινου σώματος η οποία εκτίθεται στο εξωτερικό περιβάλλον, όπως το δέρμα, η ουρογεννητική οδός, οι αναπνευστικοί ιστοί και η γαστρεντερική οδός.¹ Οι μικροβιακοί πληθυσμοί που αποικίζουν τον άνθρωπο έχουν ονομαστεί συλλογικά «ανθρώπινο μικροβίωμα» (AM) ή «ανθρώπινη μικροχλωρίδα». Το AM είναι ένα πολύπλοκο οικοσύστημα, το οποίο εκτιμάται ότι αποτελείται από περίπου 10^{14} βακτηριακά κύτταρα, που είναι 10 φορές περισσότερα από το συνολικό αριθμό των κυττάρων στο ανθρώπινο σώμα. Έχουν αποδοθεί πολλαπλές λειτουργίες στις μικροχλωρίδες, σημαντικότερες από τις οποίες είναι η σύνθεση βιταμινών (π.χ. βιταμίνη K και B₁₂, φυλλικό οξύ), ο μεταβολισμός χολικών αλάτων, ο καταβολισμός φυτικών ινών, βλέννης και λιπαρών οξέων, η ρύθμιση φλεγμονωδών αντιδράσεων και η ομοιοστάση του ανοσοποιητικού συστήματος. Έτσι, το AM έχει αποκληθεί «υπερ-οργανισμός» ή «ξεχασμένο όργανο» ή «το εκτεταμένο γονιδιώμα μας».²

Στο παρελθόν είχαν γίνει σημαντικές προσπάθειες για την καταγραφή των πληθυσμών των μικροβίων που υπάρχουν σε κάθε ανατομική περιοχή και ιδιαίτερα στο έντερο, με καλλιέργεια των βακτηρίων σε θρεπτικά υποστρώματα και την ακόλουθη απομόνωσή τους. Σήμερα, είναι πλέον γνωστό ότι μόνο το 20–40% των μικροβίων του ανθρώπινου σώματος μπορούν να καλλιεργηθούν. Το ενδιαφέρον για τις μικροχλωρίδες αναζωπυρώθηκε στη δεκαετία του 1990 λόγω της προόδου της (βιο-)τεχνολογίας, που παρείχε τη δυνατότητα να μελετηθούν και μικροοργανισμοί που δεν ήταν δυνατόν να καλλιεργηθούν.³ Οι σύγχρονες τεχνολογίες περιλαμβάνουν ποιοτικές και ποσοτικές τεχνικές που αναπτύχθηκαν τις δύο τελευταίες δεκαετίες και οι οποίες δεν απαιτούν καλλιέργεια και απομόνωση των μικροβίων. Οι τεχνολογίες αυτές αρχικά βασίζονταν σε μεθόδους DNA υβριδισμού ή PCR. Ιδιαίτερα σημαντική ήταν η χρησιμοποίηση της μεθόδου ταξινόμησης των μικροβίων βάσει της αλληλουχίας του 16S rRNA γονιδίου, η οποία επέτρεψε λεπτομερή περιγραφή της σύνθεσης των μικροχλωρίδων και ιδιαίτερα εκείνης του εντέρου. Πιο πρόσφατα, η ανάπτυξη ταχέων και φθηνών μεθόδων προσδιορισμού της αλληλουχίας του DNA και η επεξεργασία του πλήθους των δεδομένων με προγράμματα βιοπληροφορικής έχει επιτρέψει τη μελέτη των μικροβιακών κοινοτήτων κατ' ευθείαν από το περιβάλλον τους χωρίς την ανάγκη καλλιέργειας και απομόνωσης. Η μεταγονιδιωματική αυτή ανάλυση

αποτελεί νέο και αποτελεσματικό εργαλείο για την ανάλυση των μικροβιακών κοινοτήτων και παρέχει πληροφορίες για τη νουκλεοτιδική αλληλουχία των γονιδίων από το σύνολο του γονιδιώματος της μικροχλωρίδας. Η εν λόγω ανάλυση μας επιτρέπει λεπτομερειακή περιγραφή του συνόλου των γονιδίων που υπάρχουν σε μια συγκεκριμένη μικροχλωρίδα και την αναγνώριση του λειτουργικού και βιολογικού ρόλου των μικροχλωρίδων τόσο στη φυσιολογική όσο και στη νοσηρή κατάσταση στον άνθρωπο. Η έρευνα για το AM επεκτείνεται και συμπληρώνεται και από μεθόδους για το χαρακτηρισμό των πρωτεϊνών (πρωτεωμική ανάλυση) και των μεταβολικών διαδικασιών (μεταβολωμική). Οι νέες τεχνολογίες επέτρεψαν όχι μόνο τη μελέτη της σύνθεσης των μικροχλωρίδων, δηλαδή ποια είδη μικροβίων, σε ποια ποσότητα και πού βρίσκεται, αλλά και τη μελέτη μεταβολικών και άλλων λειτουργιών, την αλληλεπίδραση μικροβίων μεταξύ τους, την αλληλεπίδραση μικροβίων και ξενιστή, καθώς και των παραγόντων που επιδρούν στη διατήρηση των μικροχλωρίδων. Η λεπτομερής αναφορά στις μεθόδους μελέτης των μικροχλωρίδων ξεφεύγει από τους σκοπούς της παρούσας ανασκόπησης και ο αναγνώστης μπορεί να εντοπίσει περισσότερες πληροφορίες στη σχετική βιβλιογραφική παραπομπή.³

Οι νέες τεχνολογίες λοιπόν επέτρεψαν την τελευταία δεκαετία τη συστηματική διερεύνηση του AM, κατ' αναλογία της μελέτης του ανθρώπινου γονιδιώματος. Οι σύγχρονες απόψεις για το AM προέρχονται κυρίως από δύο μεγάλα ερευνητικά προγράμματα που άρχισαν το 2007: Το πρόγραμμα διερεύνησης του ανθρώπινου μικροβιώματος (Human Microbiome Project), που χρηματοδοτήθηκε από τα Εθνικά Ινστιτούτα Υγείας των ΗΠΑ (US National Institutes of Health, NIH, διαθέσιμο στο: <http://commonfund.nih.gov/hmp/>), και ανάλογο πρόγραμμα που χρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση (MetaHIT Consortium, διαθέσιμο στο: <http://www.metahit.eu>), το οποίο εστιάζει στην εντερική μικροχλωρίδα. Αμφότερα τα προγράμματα είχαν ως σκοπό τη συσχέτιση των ποικιλιών στο AM με διαφορές στη μεταβολική λειτουργία και τις παθήσεις διαφόρων ατόμων, καθώς και την ανάδειξη των προοπτικών βελτίωσης της ανθρώπινης υγείας μέσω της παρακολούθησης ή της τροποποίησης του ανθρώπινου μικροβιώματος. Στους επί μέρους στόχους των συγκεκριμένων προγραμμάτων περιλαμβάνονται (α) η διερεύνηση σε εθελοντές της παρουσίας κοινής βασικής μικροχλωρίδας (core human microbiome), (β) η εξέταση της σχέσης μεταβολών στις μικροχλωρίδες με αλλαγές στην κατάσταση υγείας, (γ) η ανάπτυξη τεχνολογικών εργαλείων για την υποστήριξη των ερευνών πάνω στο AM και (δ) η αντιμετώπιση των ηθικών, νομικών και κοινωνικών επιπτώσεων από την έρευνα για το ανθρώπινο μικροβίωμα. Τα δύο προγράμματα βρίσκονται στην ολο-

κλήρωσή τους, έχοντας συμβάλει σημαντικά στην εξέλιξη των γνώσεών μας για την επίδραση των μικροχλωρίδων στη φυσιολογία του ανθρώπινου σώματος και τη συσχέτισή τους με παθολογικές καταστάσεις.

Ο αναγνώστης των σύγχρονων μελετών του ΑΜ πρέπει να εξοικειωθεί με την ονοματολογία βάσει της οποίας αναφέρονται τα βακτήρια σε αυτές. Ενώ σε παλαιότερες μελέτες γινόταν αναφορά σε επίπεδο γένους και είδους βακτηρίου, στις νεότερες τα βακτήρια αναφέρονται σε επίπεδο συνομοταξίας ή φύλου (phylum), που ανήκει σε υψηλότερο ταξινομητικό επίπεδο. Υπενθυμίζεται ότι η ταξινόμηση των βακτηρίων περιλαμβάνει τα ακόλουθα επίπεδα: Επικράτεια (domain), βασίλειο (kingdom), συνομοταξία ή φύλο (phylum), ομοταξία ή κλάση (class), τάξη (order), οικογένεια (family), γένος (genus) και είδος (species). Στον πίνακα 1 παρατίθενται παραδείγματα φύλων βακτηρίων, καθώς και επομένων επιπέδων ταξινόμησης μέχρι του επιπέδου του γένους για σαπροφυτικά και παθογόνα βακτήρια που αποικίζουν τον άνθρωπο, ώστε ο αναγνώστης να μπορέσει να συνδυάσει γνωστά γένη βακτηρίων με τα φύλα στα οποία ανήκουν. Έχει γίνει προσπάθεια να περιληφθούν όλα τα μικρόβια που απαντώνται στην παρούσα ανασκόπηση.

Από τα αποτελέσματα πρόσφατων ερευνών προκύπτει ότι η βακτηριακή ποικιλότητα είναι εντυπωσιακή ως προς την παρουσία μεγάλου αριθμού μικροβίων, η οποία, όμως, αποτελείται από έναν περιορισμένο αριθμό φύλων. Μόνο 4 από τα 50 γνωστά φύλα μικροβίων που έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα και συγκεκριμένα μικρόβια των φύλων *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* και *Proteobacteria* επικρατούν στους βλεννογόνους και στο δέρμα των ανθρώπων.⁴ Αυτό σημαίνει ότι η φυσική επιλογή έχει περιορίσει τη βιοποικιλότητα κατά τη διάρκεια των δεκάδων χιλιάδων χρόνων συν-εξέλιξης μικροοργανισμών και ανθρώπου. Σημειώνεται επίσης ότι κάθε άτομο σε κάθε θηλαστικό είδος, περιλαμβανομένου του *homo sapiens*, διαθέτει πρακτικά μια μοναδική χλωρίδα, κάτι δηλαδή ως «μικροβιακό αποτύπωμα».

3. ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΜΙΚΡΟΧΛΩΡΙΔΑ

Στη διεθνή βιβλιογραφία, οι όροι *gut microbiota* και *gut microbiome* εναλλάσσονται, αλλά υφίσταται μια σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Αναλυτικότερα, ο όρος *gut microbiota* αναφέρεται στην κοινότητα των μικροοργανισμών που διαβιούν στη γαστρεντερική περιοχή ενός ατόμου και αποτελείται από μέλη των βακτηρίων, των ιών τους (φάγων), των αρχαίων (archaea), των μυκήτων, καθώς και των ευκαρυωτικών μικροοργανισμών και επομένως μπορεί να χαρακτηριστεί ως μικροχλωρίδα του εντέρου.

Ο όρος *gut microbiome* αφορά στο σύνολο των γονιδίων των μικροβίων της εντερικής μικροχλωρίδας ενός ατόμου.⁵

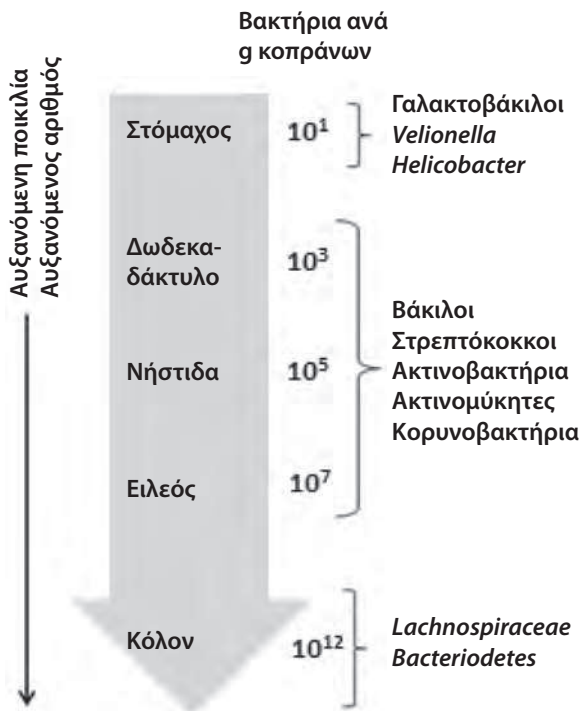
Η μαζική παράλληλη αλληλούχηση του γονιδιώματος των μικροβίων του εντέρου έχει αποκαλύψει την πολυπλοκότητα του γαστρεντερικού ΑΜ, με χιλιάδες διαφορετικούς φυλότυπους που ανήκουν κατά μείζονα λόγο στα φύλα των *Firmicutes* και *Bacteroidetes*. Μικρότεροι πληθυσμοί ανήκουν στα *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobiota* ή *Fusobacteria*. Περίπου 400–500 διαφορετικά είδη μικροβίων συνιστούν τη χλωρίδα του εντερικού ΑΜ. Υπολογίζεται ότι περίπου 70% των μικροβιακών αυτών κοινοτήτων αποτελείται από βακτήρια που δεν μπορούν να καλλιεργηθούν με τις συνήθεις μικροβιολογικές τεχνικές. 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 των βακτηριακών κυττάρων έχει βρεθεί στο παχύ έντερο (10^{12} βακτήρια ανά γραμμάριο εντερικού ιστού). Το ΑΜ του παχέος εντέρου είναι πυκνότερο και περισσότερο πολυποίκιλο σε σχέση με το ΑΜ του λεπτού εντέρου (εικ. 1). 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.² Τέλος, οι μικροβιακοί πληθυσμοί που σχετίζονται με τη βλεννογόνια στιβάδα διαφέρουν από εκείνους που βρίσκονται στον εντερικό αυλό (εικ. 2). Η διαφορά αυτή πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη στο σχεδιασμό μελετών για την επίδραση των μικροχλωρίδων σε παθολογικές καταστάσεις. Ιδανικά, για τη συσχέτιση της εντερικής μικροχλωρίδας με παθήσεις του εντέρου θα πρέπει να χρησιμοποιούνται βιοψίες του εντερικού βλεννογόνου παρά δείγματα κοπράνων για τον καθορισμό της μικροχλωρίδας.^{6,7} 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: *Bacteriodes* (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.⁸ 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. Σε πρόσφατη μελέτη διαδοχικών δειγμάτων κοπράνων από 207 άτομα διαπιστώθηκε ότι, παρά τις αλλαγές στη συνολική σύνθεση των κοπράνων σε διάφορες χρονικές στιγμές, τα άτομα διατηρούσαν συγκεκριμένα στελέχη, όπως φάνηκε

Πίνακας 1. Φύλα βακτηρίων με παραδείγματα βακτηρίων σε επίπεδο γένους που αποικίζουν τον άνθρωπο. Ο κατάλογος περιλαμβάνει μόνο τα φύλα βακτηρίων συμβιωτικών ή παθογόνων για τον άνθρωπο και δεν είναι πλήρης. Από: *Société de Bactériologie Systématique et Vétérinaire* (διαθέσιμο στο: <http://www.bacterio.cict.fr>, προσπέλαση, Ιανουάριος 2013).

Συνομοταξία ή φύλο	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	Campylobacterales	Campylobacteraceae	Campylobacter	
	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium
			Lachnospiraceae	Lachnospira	
			Rumminococcaceae	Faecalibacterium Ruminococcus	
Bacilli		Bacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus	
			Bacillaceae	Bacillus	
		Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus Pediococcus	
			Enterococcaceae	Enterococcus	
		Streptococcaceae	Streptococcus Lactococcus		
Actinobacteria		Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	Campylobacter
				Mycobacteriaceae	Mycobacterium
			Micrococaceae	Microbacterium	
	Bifidobacteriales	Bifidobacteraceae	Bifidobacterium		
Fusobacteria	Fusobacteriia	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae	Fusobacterium	
			Leptotrichiaceae	Streptobacillus	
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteriodaceae	Bacteroides	
			Porphyromonadeceae	Porphyromonas	
			Prevotellaceae	Prevotella	
	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium	
Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Verrucomicrobium	

από την ανίχνευση ταυτόσημων μεταλλάξεων (SNP) στα μικρόβια αυτά στις διάφορες χρονικές στιγμές.⁹ Επομένως, φαίνεται ότι στην εντερική χλωρίδα κάθε ατόμου υπάρχουν

στελέχη βακτηρίων που χαρακτηρίζουν το μικροβίωμά του και τα οποία δεν αντικαθίστανται εύκολα. Αυτό βέβαια οδηγεί τη σκέψη σε μελλοντική ανάγκη εξατομικευμένης



Εικόνα 1. Μεταβολές στον αριθμό και τη σύνθεση της μικροχλωρίδας κατά μήκος της γαστρεντερικής οδού.



Εικόνα 2. Διαφορές στο ανθρώπινο μικροβίωμα (AM) του εντέρου μεταξύ βλεννογόνου, όπου τα βακτήρια είναι προσκολλημένα, και του εντερικού αυλού.

θεραπευτικής προσέγγισης μέσω διαιτητικής ή φαρμακευτικής μεταβολής της μικροχλωρίδας.

3.1. Συμβίωση, δυσβίωση και ανοσοποιητικό σύστημα

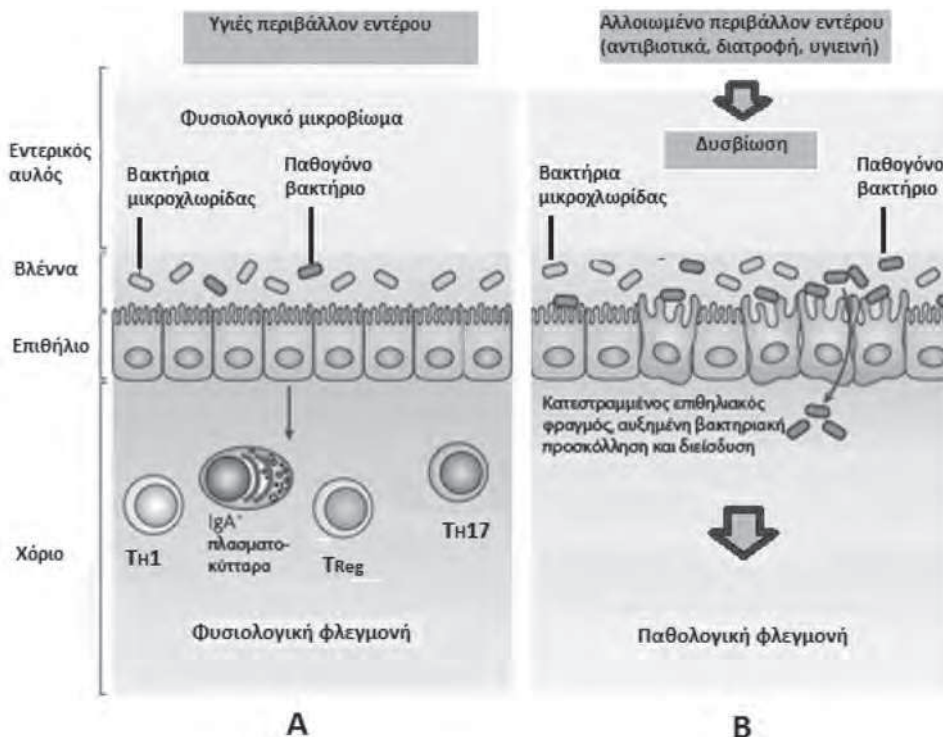
Η σχέση μεταξύ του AM του εντέρου και του ξενιστή είναι συμβιωτική, κατά την οποία τόσο ο ξενιστής όσο και οι μικροοργανισμοί έχουν κοινή ωφέλεια. Από την πλευρά του ο ξενιστής προσφέρει τόπο ανάπτυξης και διατροφής στα συμβιωτικά εντερικά βακτήρια, τα οποία με τη σειρά τους ευνοούν τη λειτουργία του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

την απορρόφηση των τροφών που έχουν υποστεί πέψη.⁷ 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 οινοπνεύματος, μπορεί να δημιουργηθούν παθολογικές καταστάσεις, όπως μικρού βαθμού χρόνια φλεγμονή του εντέρου ή μεταβολικές διαταραχές, όπως θα περιγραφεί στα επόμενα κεφάλαια (εικ. 3).

Οι αλληλεπιδράσεις των (συμβιωτικών) μικροβίων μεταξύ τους αποτελεί ένα από τα πλέον ενδιαφέροντα ζητήματα στη θεματική του AM. Για παράδειγμα, 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 αντανακλά 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.¹⁰ Ελπίζεται ότι στη σύγχρονη εποχή των “-omics” θα διαλευκανθούν οι παράγοντες οι οποίοι συμβάλλουν στη συμβίωση και στον ανταγωνισμό των μικροβίων.¹¹

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 AM 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 (ΣΜ). Έχει βρεθεί ότι οι σπλήνες των ΣΜ μυών περιέχουν λιγότερα και μικρότερα βλαστικά κέντρα στους λεμφαδένες και μειωμένο αριθμό CD₄⁺. Τ κυττάρων μνήμης στο εντερικό επιθήλιο, ότι η παραγωγή κυτταροκινών ανήκει σε ανοσιακή απόκριση τύπου Th2 και ότι τα ζώα αυτά έχουν ελαττωμένη ικανότητα έκκρισης μικροβιοκτόνων παραγόντων. Ο επαναποικισμός των μυών αυτών με ειδικά για τους μύες βακτήρια μπορεί να αντιστρέψει ορισμένες από τις εν λόγω



Εικόνα 3. Σχηματική αναπαράσταση των αλληλεπιδράσεων ξενιστή-μικροβιώματος στο υγιές και το φλεγμαινόν έντερο. Σε υγιείς ξενιστές, η ακεραιότητα του εντερικού βλεννογόνου και ο ανοσολογικός φραγμός διατηρεί την εντερική χλωρίδα στον εντερικό αυλό, ενώ μηχανισμοί ανάδρασης οδηγούν στην αποφυγή εκτεταμένης ενεργοποίησης των ανοσιακών απαντήσεων του ξενιστή. Τα μικρόβια της φυσιολογικής μικροχλωρίδας απελευθερώνουν αντιφλεγμονώδη προϊόντα που ρυθμίζουν την ανοχή της απάντησης του ξενιστή προς τα μικρόβια της χλωρίδας και βοηθούν στην άμβλυση των φλεγμονωδών επιδράσεων παθογόνων μικροβίων που ενδεχομένως είναι παρόντα στο ΑΜ, διατηρώντας έτσι την εντερική ομοιοστασία. Σε ανοσοανεπαρκείς ασθενείς, στους οποίους υπάρχει έλλειψη ενός σημαντικού παράγοντα του εντερικού φραγμού, όπως για παράδειγμα των εκκριτικών ανοσοσφαιρινών ή του υποδοχέα της ιντερλευκίνης 10, αναπτύσσεται εντερική φλεγμονή όταν εκτίθενται στην εντερική μικροχλωρίδα και σε παθογόνους μικροοργανισμούς.

διαταραχές, όπως δείχνει πειραματικά η αποκατάσταση της συστημικής ανεπάρκειας των Τ κυττάρων, καθώς και της ανισορροπίας του λόγου Th1/Th2 ΣΜ 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 ανοσο-επαρκείς ξενιστές. Οι μηχανισμοί πάντως μέσω των οποίων το ΑΜ επιδρά στο περιφερικό ανοσοποιητικό σύστημα δεν είναι πλήρως κατανοητοί και αποτελούν αντικείμενο εντατικής έρευνας. Πρόσφατα, διαπιστώθηκε 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

3.2. Η εντερική μικροχλωρίδα του ανθρώπου από τη γέννηση μέχρι το γήρας

Η εντερική μικροχλωρίδα μεταβάλλεται κατά τα διάφορα στάδια της ζωής ενός ατόμου. Η περίοδος κατά την οποία

ο οργανισμός του ανθρώπου επηρεάζεται περισσότερο από το ΑΜ είναι η μεταγεννητική περίοδος, κατά την οποία το ελεύθερο μικροβίων νεογνό μεταφέρεται από το στείρο περιβάλλον της μήτρας σε έναν κόσμο που βρίθκει μικροβίων και κατά την οποία η επιφάνεια του δέρματος και οι βλεννογόνοι του νεογνού σταδιακά αποικίζονται από μικροοργανισμούς. Η άμεση επαφή των νεογέννητων με μικρόβια του γεννητικού σωλήνα κατά το φυσιολογικό τοκετό επηρεάζει την ανάπτυξη του εντερικού ΑΜ, όπως φαίνεται και από την ομοιότητα του ΑΜ των νεογνών με εκείνο του κόλπου των μητέρων τους. Από την άλλη πλευρά, παιδιά που έχουν γεννηθεί με καισαρική τομή έχουν διαφορετική σύσταση της μικροχλωρίδας του εντέρου σε σχέση με εκείνα που γεννήθηκαν με φυσιολογικό τρόπο. Επιπρόσθετα, έχει παρατηρηθεί ότι οι μικροχλωρίδες των ενήλικων μονοζυγωτικών και διζυγωτικών διδύμων ήταν εξ ίσου όμοιες με εκείνες των υπόλοιπων αδελφών τους, υπογραμμίζοντας έτσι το γεγονός ότι ο αποικισμός της μικροχλωρίδας από την κοινή μητέρα τους ήταν πιο καθοριστικός παράγοντας για τη διαμόρφωση του ΑΜ των ενηλίκων απ' ό,τι το γενετικό τους υπόβαθρο. Μετά τον

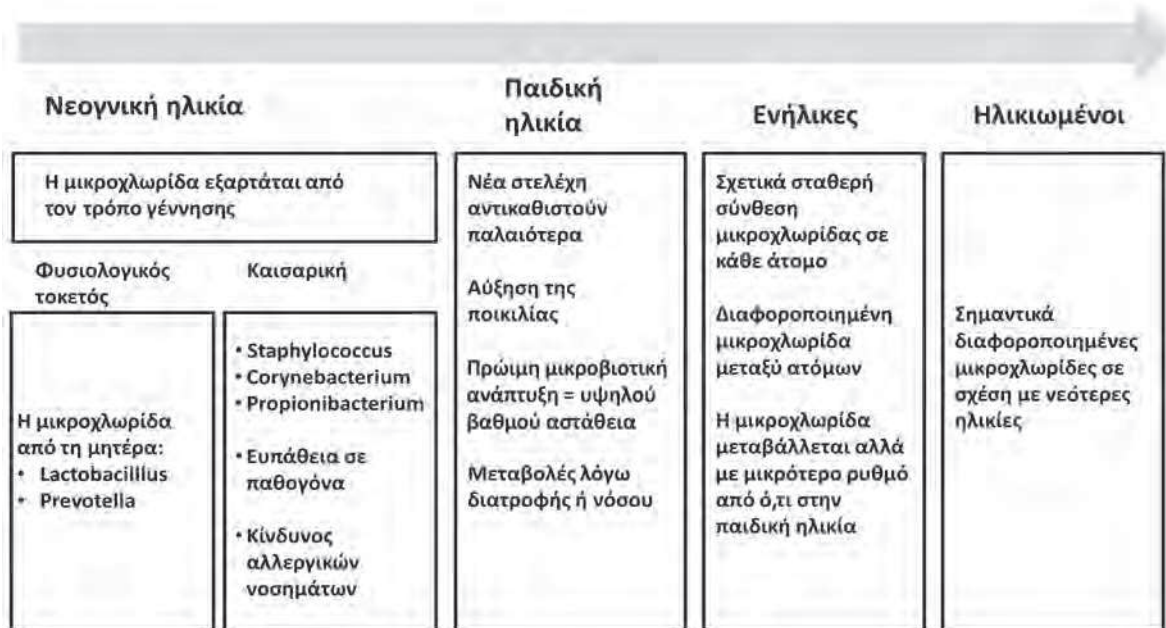
πρώτο χρόνο της ζωής, το εντερικό ΑΜ των παιδιών αρχίζει να ομοιάζει με εκείνο ενός νεαρού ενήλικα και τότε είναι η περίοδος κατά την οποία το ΑΜ ασκεί τη μεγαλύτερη δράση πάνω στο ανοσοποιητικό σύστημα του παιδιού (εικ. 4). Η πλήρης σύνθεση των κυριότερων βακτηριακών πληθυσμών, πάντως, δεν σταθεροποιείται μέχρι τουλάχιστον τα δύομισι πρώτα χρόνια της ζωής.^{15,16}

Το μητρικό γάλα, όπως είναι φυσικό, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη διαμόρφωση της εντερικής χλωρίδας όσο και στην προστασία του νεογνού από παθογόνα βακτήρια. Ο μαζικός αδένας αποικίζεται από ανοσολογικά κύτταρα από το έντερο μέσω του «εντερο-μαζικού άξονα» (“*entero-mammary axis*”), με αποτέλεσμα οι εκκρίσεις από το μαστό να περιέχουν IgA αντισώματα. Είναι γνωστό επίσης ότι το μητρικό γάλα περιέχει εκτός των αντισωμάτων και άλλους παράγοντες, όπως η καζεΐνη που διασπώμενη παράγει γλυκομακροπεπτίδια και η λακτοφερίνη, που προστατεύουν το μη πλήρως αναπτυγμένο έντερο του θηλάζοντος παιδιού από λοιμώδεις παράγοντες. Ο ρόλος όμως των μικροβίων που απαντώνται στο μητρικό γάλα παραμένει εν πολλοίς άγνωστος. Σε πολύ πρόσφατη μελέτη της μικροχλωρίδας του πρωτογάλακτος (πύαρ, γάλα που παράγεται από το μαστό πριν ή αμέσως μετά από τον τοκετό), τα βακτήρια που βρέθηκαν συχνότερα ήταν σταφυλόκοκκοι, στρεπτόκοκκοι και γαλακτοβάκιλοι, που πιθανόν προέρχονταν από το δέρμα του μαστού. Αντίθετα, το γάλα που παραγόταν από το μαστό από τον πρώτο έως και τον έκτο μήνα μετά τον τοκετό περιείχε βακτήρια που απαντώνται στη στοματική κοιλότητα, πιθανόν από

τη χλωρίδα της στοματικής κοιλότητας του βρέφους. Τα μικρόβια του γάλακτος είναι από τα πρώτα που εισέρχονται στον οργανισμό και μπορεί να επηρεάζουν τη σύσταση της εντερικής μικροχλωρίδας του βρέφους, να έχουν μεταβολικό ρόλο ή και να επιδρούν στην ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος.¹⁷ Η μελέτη της μικροχλωρίδας του μητρικού γάλακτος και της επίδρασής της στον οργανισμό του νεογνού μπορεί να οδηγήσει στη βελτίωση του τεχνητού γάλακτος υποκατάστασης, ενδεχομένως με την προσθήκη ωφέλιμων βακτηρίων.

Η εντερική μικροχλωρίδα των εγκύων γυναικών κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης είναι συγκρίσιμη με εκείνη των υγιών μαρτύρων. Ωστόσο, κατά την πορεία της εγκυμοσύνης η μικροχλωρίδα μεταβάλλεται σημαντικά τόσο ως προς τη σύνθεση όσο και τη δομή της, με αποτέλεσμα στο τρίτο τρίμηνο της κύησης η ποικιλομορφία μεταξύ των εγκύων γυναικών να είναι μεγάλη. Επί πλέον, η μεταβολή του εντερικού ΑΜ κάθε γυναίκας δεν μπορεί να προβλεφθεί από τη σύστασή του κατά το πρώτο τρίμηνο.¹⁸ Στην πλειονότητα των δειγμάτων, από το τρίτο τρίμηνο της κύησης παρατηρείται εμπλουτισμός σε *Proteobacteria* και *Actinobacteria*, ενώ το *Faecalibacterium*, μικρόβιο που παράγει βουτυρικό με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, βρίσκεται κατά μέσο όρο σε μικρότερους αριθμούς στο τρίτο τρίμηνο απ’ ό,τι στην αρχή της εγκυμοσύνης.

Η σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας στους ηλικιωμένους ανθρώπους (>65 ετών) είναι εξαιρετικά ποικίλη μεταξύ των ατόμων και διαφέρει από εκείνη των νεότερων. Παρ’ ό,τι η επιδείνωση της λειτουργίας των οδόντων και των



Εικόνα 4. Μεταβολές της εντερικής χλωρίδας του ανθρώπου στις διάφορες ηλικίες.

σιελογόνων αδένων, της πέψης και του χρόνου διέλευσης των τροφών στο έντερο, αλλά και η φλεγμονή επηρεάζουν την εντερική μικροχλωρίδα, ίσως ο πλέον σημαντικός αλλά και μεταβαλλόμενος παράγοντας είναι οι διαιτητικές συνήθειες που διαμορφώνουν τη μικροχλωρίδα, η οποία στη συνέχεια με τη σειρά της επηρεάζει την υγεία των ηλικιωμένων.¹⁹ Στο μέλλον πιστεύεται ότι θα είναι εφικτή η ρύθμιση της εντερικής μικροχλωρίδας με κατάλληλες διαιτητικές ή φαρμακευτικές παρεμβάσεις, με σκοπό το γήρας να συνοδεύεται από λιγότερα νοσήματα. Εξ ίσου ελκυστική θα ήταν η δυνατότητα εντοπισμού ηλικιωμένων ατόμων, των οποίων η εντερική χλωρίδα δεν προδιαθέτει σε υγιές γήρας, που θα μπορούσε να επιτευχθεί μέσω της ανάλυσης του προφίλ της μικροχλωρίδας, μεταβολωμικής ανάλυσης και χρήσης κατάλληλων βιοδεικτών.

Η σύνθεση του εντερικού ΑΜ διαφέρει μεταξύ φυσιολογικών ατόμων που κατοικούν σε αναπτυσσόμενες ή αναπτυγμένες χώρες. Ο τοκετός των παιδιών στις αναπτυσσόμενες χώρες λαμβάνει χώρα σε νοσοκομειακά ιδρύματα με τη μέγιστη δυνατή περίθαλψη και τη διαφύλαξη των μέτρων υγιεινής, γεγονός που έχει ως συνέπεια το μικροβιακό εντερικό φάσμα των νεογέννητων να είναι λιγότερο ευρύ σε σχέση με εκείνο των αντίστοιχων νεογνών στις αναπτυσσόμενες χώρες.²⁰ Σε ενήλικες, το ΑΜ στους ευρωπαϊκούς πληθυσμούς αποτελείται κατά κύριο λόγο από τον εντερότυπο των *Bacteroides*, ενώ το ΑΜ στους πληθυσμούς της Αφρικής από εκείνο του *Prevotella*. Οι διαιτητικές ανομοιοότητες προσφέρουν την πλέον πιθανή εξήγηση, όπως διαπιστώθηκε σε σχετική μελέτη σύγκρισης του ΑΜ του ευρωπαϊκού παιδιατρικού πληθυσμού που κατανάλωνε μια δυτικού τύπου διαίτα πλούσια σε ζωική πρωτεΐνη και λίπος, με το ΑΜ παιδιών στην περιοχή Burkina Faso της Αφρικής με διαίτα υψηλή σε υδατάνθρακες και χαμηλή σε πρωτεΐνες.²¹

3.3. Αντιβιοτικά και σύσταση του μικροβιώματος

Τα τελευταία χρόνια, στις συζητήσεις για την ορθή χρήση των αντιβιοτικών λαμβάνεται υπ' όψη και η επίδραση που μπορεί να έχει η κατανάλωση αντιβιοτικών στη φυσιολογική εντερική μικροχλωρίδα και στον κίνδυνο απομάκρυνσης ωφέλιμων μικροβίων. Μελέτες σε πειραματόζωα, καθώς και σε ανθρώπους, έχουν δείξει ότι τα αντιβιοτικά επηρεάζουν τη σύσταση του μικροβιώματος. Για παράδειγμα, τόσο κατά τη διάρκεια της χορήγησης όσο και 5 ημέρες μετά από τη διακοπή σιπροφλοξασίνης σε 3 ασθενείς, παρατηρήθηκε μείωση της ποικιλομορφίας, του πληθυσμού και της σχετικής ποσότητας στελεχών του ΑΜ των κοπράνων.²² Σε πειραματόζωα, μετά από χρήση αντιβιοτικών σχεδόν το 88% από τους περίπου 2.000 ανιχνεύσιμους μεταβολίτες

που βρίσκονται στα κοπρανώδη υλικά εμφάνισαν ποσοτική μεταβολή.²³ Σε άλλη μελέτη βρέθηκε ότι επταήμερο σχήμα χορήγησης κλινδαμυκίνης όχι μόνο μείωσε την ποικιλότητα του γένους των *Bacteroides* στα κόπρανα και οδήγησε σε αύξηση της αντοχής στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό, αλλά και ότι ο πληθυσμός των *Bacteroides* δεν επέστρεψε στην αρχική του σύνθεση ακόμη και ύστερα από δύο χρόνια διακοπής της χορήγησης της κλινδαμυκίνης.²⁴

Ιδιαίτερα χαρακτηριστικό παράδειγμα για τη σημασία του εντερικού ΑΜ αποτελεί η περίπτωση του *C. difficile*. Η λοίμωξη από *C. difficile* σχετίζεται με τη χορήγηση ευρέως φάσματος αντιβιοτικών σε νοσηλεύομενους ασθενείς και θεωρείται ότι οφείλεται στην απομάκρυνση των προστατευτικών συμβιωτικών βακτηρίων εξ αιτίας των αντιβιοτικών. Το *C. difficile* είναι παρόν στο έντερο περίπου στο 5% του ενήλικου πληθυσμού, αν και δεν θεωρείται στέλεχος της μικροβιακής εντερικής μικροχλωρίδας. Η διαταραχή της ενδογενούς εντερικής μικροχλωρίδας, η οποία είναι σημαντική για την αποτροπή της ανάπτυξης του *C. difficile* από τα αντιβιοτικά, μπορεί να καταστήσει το έντερο περισσότερο ευάλωτο στον αποικισμό από εξωγενούς προέλευσης σπόρους *C. difficile* ή από την υπερανάπτυξη του παθογόνου σε άτομα που έχουν αποικιστεί.²⁵ Παρ' ότι η χορήγηση αντιβιοτικών, όπως η βανκομυκίνη ή η μετρονιδαζόλη, είναι συνήθως αποτελεσματική στη θεραπεία της λοίμωξης από το συγκεκριμένο μικροοργανισμό, ως λύση για ανθεκτικές υποτροπιάζουσες λοιμώξεις από *C. difficile* έχει προταθεί η θεραπευτική μεταμόσχευση εντερικής μικροχλωρίδας. Η διαδικασία της μεταμόσχευσης περιλαμβάνει την ένθεση μικροοργανισμών από την εντερική μικροχλωρίδα ενός υγιούς δότη στο έντερο ενός ασθενούς, με σκοπό να αποκατασταθεί η φυσιολογική μικροχλωρίδα του εντέρου του. Σε σχετική μετα-ανάλυση διαπιστώθηκε ότι το σύνολο σχεδόν των ασθενών στους οποίους εφαρμόστηκε μεταμόσχευση μικροχλωρίδας των κοπράνων (ΜΜΚ) για λοίμωξη από *C. difficile* εμφάνισε πλήρη ίαση.²⁶ Σε συμφωνία με τα συμπεράσματα της μετα-ανάλυσης αυτής είναι και τα ευρήματα πρόσφατης τυχαίοποιημένης κλινικής μελέτης σε ασθενείς με υποτροπιάζουσες λοιμώξεις από *C. difficile*, σύμφωνα με την οποία οι 13 από τους 16 (81%) ασθενείς που έλαβαν ΜΜΚ είχαν άμεση υποστροφή της διάρροιας μετά από μία συνεδρία ΜΜΚ, ενώ για τους δύο από τους υπόλοιπους τρεις απαιτήθηκε δεύτερη ΜΜΚ από άλλο δότη. Η ΜΜΚ στους ασθενείς αυτούς ήταν σημαντικά πιο αποτελεσματική από τη χορήγηση βανκομυκίνης.²⁷

Ο χαρακτηρισμός και η ταυτοποίηση των συμβιωτικών βακτηρίων της γαστρεντερικής οδού, που είναι ικανά να επάγουν προστασία απέναντι στο *C. difficile*, θα μπορούσε στο εγγύς μέλλον να οδηγήσει στη χρήση ωφέλιμων βακτηρίων είτε ενός μόνο γένους είτε ενός μείγματος

συμβιωτικών μικροβίων για την καταπολέμηση του εν λόγω βακτηρίου. Η κατανόηση των μεταβολικών μονοπατιών που χρησιμοποιούνται από συμβιωτικά μικρόβια προκειμένου να ανταγωνιστούν τα παθογόνα μικρόβια μπορεί να οδηγήσει σε γενετική τροποποίηση των συμβιωτικών μικροβίων με αυξημένη ικανότητα να περιορίζουν τον αποικισμό από παθογόνα. Μια τέτοια εξέλιξη θα ενίσχυε τη θεραπευτική μας φαρέτρα για την καταπολέμηση εντερικών λοιμώξεων, όπως αυτές που προκαλούνται από το *C. difficile* και το εντεροπαθογόνο κολοβακτηρίδιο.^{25,28}

3.4. Μικροβίωμα, φλεγμονώδης νόσος του εντέρου και μεταμόσχευση μικροβίων

Η εμπλοκή μικροβίων στην αιτιολογία των φλεγμονωδών νόσων του εντέρου (ΦΝΕ) έχει διερευνηθεί εκτεταμένα στο παρελθόν και κατά καιρούς διάφορα μικρόβια έχουν ενοχοποιηθεί, όπως το *Mycobacterium avium* (υπότυπος *paratuberculosis*), το οποίο έχει συσχετιστεί με την αιτιολογία της νόσου Crohn. Παρ' ότι είναι δύσκολο να εντοπιστούν συγκεκριμένοι «μικροβιακοί ένοχοι» και δεν υπάρχουν σαφή συμπεράσματα για κάποιο ειδικό παθογόνο που να προκαλεί ΦΝΕ, πολλαπλές μελέτες έχουν δείξει αλλαγή στη σύνθεση του εντερικού ΑΜ τόσο στην ελκώδη κολίτιδα όσο και στη νόσο Crohn. Φαίνεται ότι στη ΦΝΕ υπάρχει αφ' ενός μειωμένη ποικιλομορφία στη μικροχλωρίδα του εντερικού αυλού με μείωση στελεχών του φύλου *Firmicutes*, όπως τα *bifidobacteria*, οι γαλακτοβάκλιοι και το *Faecalibacterium prausnitzii*, και αφ' ετέρου αύξηση των μικροβίων που είναι προσκολλημένα στη βλέννη. Τα στελέχη *Firmicutes* είναι οι κύριοι παραγωγοί λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου, όπως το βουτυρικό οξύ, με ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες. Μελέτες έχουν δείξει πιθανά οφέλη από υποκλυσμούς βουτυρικού, όταν χρησιμοποιείται ως συμπλήρωμα στις κλασικές θεραπείες, ιδιαίτερα στην επιμένουσα ελκώδη κολίτιδα.²⁶ Πάντως, πρέπει να τονιστεί ότι μέχρι σήμερα δεν έχει αποσαφηνιστεί αν οι σχετιζόμενες με τη ΦΝΕ αλλαγές στην εντερική μικροχλωρίδα αποτελούν την αιτία ή τη συνέπεια της ΦΝΕ. Εκτός όμως από το ρόλο της μικροχλωρίδας, αναφορικά με ΦΝΕ, υπάρχει και η επίδραση του φαινοτύπου του ξενιστή, όπως προκύπτει από μελέτες οι οποίες έχουν εντοπίσει πολλαπλούς γενετικούς τόπους που σχετίζονται με την παθοφυσιολογία της ΦΝΕ.²⁹ Φαίνεται λοιπόν ότι άτομα που φέρουν αρκετούς από αυτούς τους γενετικούς τόπους είναι περισσότερο ευαίσθητα στη γαστρεντερική φλεγμονή, εξ αιτίας ανεπαρκούς ρύθμισης των μικροβιακών κοινοτήτων του εντέρου και λόγω μιας «υπέρ του δέοντος» φλεγμονώδους απάντησης στα μικρόβια που αποικίζουν το βλεννογόνο.¹ Επομένως, εάν διαταραχθεί στο ΑΜ συσχετίζονται με τη ΦΝΕ, τότε ενδεχομένως η θεραπευτική μεταβολή της μικροχλωρίδας μπορεί να

έχει ευεργετική επίδραση σε ασθενείς με ΦΝΕ. Πράγματι, χρήση της ΜΜΚ για τον έλεγχο της ενεργού ΦΝΕ κατέληξε σε μείωση ή πλήρη εξάλειψη των συμπτωμάτων στο 76% των ασθενών, σε διακοπή όλων των φαρμάκων έναντι της ΦΝΕ στο 76%, καθώς και σε παρατεταμένη ύφεση της ενεργού νόσου στο 63% των ασθενών.²⁶

3.5. Μικροβίωμα και καρκίνος της γαστρεντερικής οδού

Ο ορθοκολικός καρκίνος είναι συχνός καρκίνος, ο οποίος ευθύνεται ετησίως για το θάνατο 600.000 ατόμων παγκόσμια. Η μετάπτωση από το δυσπλαστικό αδένωμα σε αδενοκαρκίνωμα παρατηρείται σε μεταλλάξεις που περιλαμβάνουν ογκοκατασταλτικά γονίδια όπως το γονίδιο της αδενωματώδους πολυποδίασης του κόλου (*APC*), το *P53* (*TP53*) και το γονίδιο της β-κατενίνης (*CTNNB1*), καθώς και ογκογονίδια, όπως το *KRAS*.³⁰ Στην ανάπτυξη του καρκίνου αυτού φαίνεται ότι επιδρούν επίσης περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η διαίτα και ο τρόπος ζωής, καθ' όσον η επίπτωση της νόσου είναι πολύ μικρότερη σε αναπτυσσόμενες απ' ό,τι στις αναπτυγμένες χώρες. Τελευταίες ενδείξεις ότι η ασπιρίνη και άλλοι αντιφλεγμονώδεις παράγοντες προφυλάσσουν από την ανάπτυξη πολυπόδων και αδενοκαρκινωμάτων στο κόλον υποδεικνύουν ότι η φλεγμονή μπορεί επίσης να διαδραματίζει ρόλο. Η μικροχλωρίδα του εντέρου μπορεί να επιδρά στο μηχανισμό καρκινογένεσης είτε μέσω της διαίτας είτε μέσω της αντιφλεγμονώδους δράσης της στο βλεννογόνο του εντέρου. Πράγματι, παλαιότερες και νεότερες μελέτες έχουν δείξει ότι η σύνθεση του εντερικού ΑΜ σχετίζεται με τον εν λόγω καρκίνο. Ήδη από το 1995 οι Moore et al έδειξαν ότι η εντερική χλωρίδα σε ασθενείς με ορθοκολικό καρκίνο χαρακτηρίζεται από αύξηση της ποικιλίας των *Clostridium* spp, καθώς και από εμπλουτισμό του εντέρου με *Bacteroides* και *Bifidobacterium* spp, ενώ, αντίστροφα, η εντερική μικροχλωρίδα ασθενών με χαμηλό κίνδυνο για ανάπτυξη καρκινώματος είναι άφθονη σε βακτήρια που παράγουν γαλακτικό οξύ, όπως *Lactobacillus* spp και *Eubacterium aerofaciens*.³¹ Σε νεότερες μελέτες με χρήση σύγχρονων μεθόδων έχει επιχειρηθεί να συνδυαστεί η δυσβίωση των μικροβίων της εντερικής μικροχλωρίδας με τον ορθοκολικό καρκίνο και είναι αξιοσημείωτο ότι όλες οι μελέτες βρίσκουν εμπλουτισμένη τη χλωρίδα σε *Fusobacterium* spp.³⁰ Είναι ενδιαφέρον επίσης ότι η σύσταση του ΑΜ των ασθενών με πολυποδίαση (που γενικά προηγείται του καρκινώματος) είναι επίσης διαφορετική από αυτή των μαρτύρων, προσεγγίζοντας εκείνη που παρατηρήθηκε στο ΑΜ των ασθενών με καρκίνο του εντέρου. Οι μεταβολές, επομένως, στο ΑΜ φαίνεται ότι προηγούνται της έναρξης των κακοήθων μετασχηματισμών, αν και παραμένει ασαφές κατά πόσο η «ανωμαλία» στο ΑΜ οδηγεί στην καρκινογένεση ή αν οι επαγόμενες από τη διαίτα ή τον

ξενιστή καρκινογόνες αλλοιώσεις επάγουν παράλληλες τροποποιήσεις στο AM της εν λόγω περιοχής.^{31,32} Για τη διευκρίνιση του ρόλου των μικροχλωρίδων απαιτούνται προοπτικές μελέτες διάρκειας δεκαετιών, ώστε να είναι δυνατός ο προσδιορισμός του εντερικού μικροβιώματος που προδιαθέτει σε ανάπτυξη καρκίνου.

Όπως είναι φυσικό, οι μελέτες για το ρόλο των βακτηρίων στην καρκινογένεση είναι εντατικές. Οι Arthur et al προτείνουν μοντέλο με βάση το οποίο η φλεγμονή του εντέρου δημιουργεί περιβάλλον που υποστηρίζει την καρκινογένεση μέσω της δράσης της τόσο στον ξενιστή όσο και στη μικροχλωρίδα.³³ Σε αυτό το «διπλής κρούσεως» μοντέλο, η φλεγμονή στοχεύει τόσο στο γενετικό υλικό των κυττάρων προάγοντας βλάβες στο DNA, όσο και στη μικροχλωρίδα. Η φλεγμονή, σύμφωνα με τους συγγραφείς, ευνοεί την ανάπτυξη βακτηρίων με «γονιδιοτοξικό» δυναμικό, όπως τα βακτήρια που φέρουν *rks* γονίδια (*rks+*), και παράλληλα δημιουργεί ευκαιρία για τα βακτήρια αυτά να προσκολληθούν στο βλεννογόνο του κόλου μέσω της μείωσης της προστατευτικής βλέννης και της παραγωγής αντιμικροβιακών πεπτιδίων. Με τον τρόπο αυτόν, τα *rks+* βακτήρια έχουν μια πιο άμεση πρόσβαση στο επιθήλιο, απαραίτητη προϋπόθεση για την αυξημένη επίδραση της κολιβακτίνης, του προϊόντος δηλαδή των *rks* γονιδίων. Είναι γνωστό ότι η κολιβακτίνη είναι τοξίνη που επάγει σοβαρές βλάβες στο DNA των μολυσμένων κυττάρων. Παρ' ότι και άλλα μικρόβια πιθανότατα συμμετέχουν στην εξέλιξη προς ορθοκολικό καρκίνο, οι ως άνω ερευνητές τονίζουν τα πολύπλοκα αποτελέσματα της φλεγμονής τόσο στη μικροβιακή σύνθεση και δραστηριότητα όσο και στη δυνατότητα του ξενιστή να προστατεύει εαυτόν από τη δυσβιωτική μικροχλωρίδα.³³

Πιο πρόσφατα, οι Grivennikov et al μελέτησαν το ρόλο της μικροχλωρίδας στη φλεγμονή στο έντερο και πρότειναν μοντέλο καρκινογένεσης που περιλαμβάνει διάφορες παραμέτρους της παθογένεσης του καρκίνου, δηλαδή μεταλλάξεις επιθηλιακών κυττάρων, διαταραχή στην ακεραιότητα του βλεννογόνου, μεταβολή των μικροχλωρίδων και ανάπτυξη φλεγμονής. Στη μελέτη τους σε πειραματόζωα διαπίστωσαν ότι μεταλλάξεις στα επιθηλιακά κύτταρα οδηγούν σε χαλάρωση των ενδοκυτταρικών συνδέσμων και μείωση στην παραγωγή βλέννης με συνέπεια μειωμένη ακεραιότητα του βλεννογόνου. Επακόλουθο αυτού είναι η αλλόθεση βακτηρίων από τον αυλό στο χόριο, όπου μικροβιακά προϊόντα συνδέονται με υποδοχείς Toll-like-receptor σε κύτταρα της μυελοειδούς σειράς, τα οποία διεγείρονται και απελευθερώνουν IL-1, IL-6 και κυρίως IL-23, που είναι υπεύθυνη με τη σειρά της για τη διέγερση T-βοηθητικών λεμφοκυττάρων για παραγωγή της ιντερλευκίνης IL-17. Η IL-17 ενεργοποιεί το μεταγραφικό παράγοντα STAT3 στα

επιθηλιακά κύτταρα, ο οποίος αυξάνει την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων με συνέπεια προσθήκη επί πλέον μεταλλάξεων. Το επιθήλιο τελικά εμφανίζει δυσπλασία και πιθανόν καρκίνωμα. Οι αλλαγές αυτές στο επιθήλιο επιβαρύνουν την ήδη διαταραγμένη ακεραιότητα του επιθηλίου, επιδεινώνοντας την αλλόθεση βακτηρίων και συμβάλλουν στο φαύλο κύκλο: βακτηριακή αλλόθεση – φλεγμονή – καρκίνος.³⁴

3.6. Μικροβίωμα και ηπατοχολικές παθήσεις

Η επιμόλυνση της λιθογόνου χολής με στελέχη της εντερικής μικροχλωρίδας αποτελεί μια σχετικά πρόσφατη παρατήρηση. Η πλειονότητα των βακτηρίων ανήκουν στα *Enterobacteriaceae*, ενώ έχουν απομονωθεί και στελέχη εντεροκόκκου και στρεπτοκόκκου.³⁵ Η παρουσία μελών του εντερικού AM στη λιθογόνο χολή μπορεί να σημαίνει είτε αυξημένη εντερική διαπερατότητα κατά την απόφραξη της χοληδόχου κύστης είτε ότι η βακτηριακή επιμόλυνση μπορεί να υποκινήσει το σχηματισμό λίθων επάγοντας τη χολόσταση.³⁶ Όσον αφορά στις ηπατικές παθήσεις, η ανάλυση της χλωρίδας των κοπράνων από κίρρωτικούς ασθενείς αποκάλυψε ελαττωμένα επίπεδα του *Bifidobacteria*. Η παραπάνω αλλαγή στη σύσταση του AM κατά την κίρρωση οδήγησε ορισμένους ερευνητές να μελετήσουν την επίδραση της χορήγησης προβιοτικών και ευβιωτικών στην ηπατική εγκεφαλοπάθεια. Σε σχετική μελέτη, κίρρωτικοί ασθενείς έλαβαν ένα συμβιωτικό, ένα ευβιωτικό ή placebo. Η ηπατική εγκεφαλοπάθεια αντιστράφηκε στο 50% των ασθενών που έλαβαν συμβιωτικό βακτήριο και σε ορισμένους που έλαβαν μόνο το προβιοτικό, ενώ παρατηρήθηκε και σημαντική αύξηση των μη παραγόντων ουρεάση γαλακτοβακίλων.³⁷

3.7. Μικροβίωμα και παχυσαρκία

Η παχυσαρκία και το μεταβολικό σύνδρομο έχουν πολύπλοκη αιτιολογία, που περιλαμβάνει γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες και συνδέεται με μονοπάτια αλληλεπίδρασης του μεταβολισμού με το ανοσοποιητικό σύστημα. Σημαντικές μελέτες για τη συσχέτιση της μικροβιακής εντερικής χλωρίδας και της παχυσαρκίας έχουν αποκαλύψει εκσεσημασμένες αλλαγές στη σύνθεση αλλά και στη λειτουργία της εντερικής χλωρίδας τόσο σε πειραματικά μοντέλα όσο και σε παχύσαρκους ασθενείς.³⁸

Σε πειραματικό μοντέλο μυών δείχθηκε ότι η πλειονότητα του εντερικού μικροβιώματος περιλαμβάνει δύο φύλα, τα *Bacteroidetes* και τα *Firmicutes*, και ότι η αναλογία των μικροβιακών φύλων διαφέρει μεταξύ παχύσαρκων και αδύνατων ποντικών: τα παχύσαρκα είχαν >50% υψηλότερη

αναλογία *Firmicutes/Bacteroidetes*. Πιθανή εξήγηση είναι ότι τα βακτήρια του φύλου *Firmicutes* μεταβολίζουν πιο αποτελεσματικά τις ενεργειακές πηγές από τα βακτήρια του φύλου *Bacteroidetes* και έτσι προάγουν την αποτελεσματική απορρόφηση θερμίδων, με συνέπεια αύξηση του βάρους. Μελέτες έδειξαν επίσης ότι ο αποικισμός μυών ελευθέρων μικροβίων με μικροβίωμα από παχύσαρκους μύες είχε ως αποτέλεσμα οι μύες να πάρουν βάρος, χωρίς να μεταβληθεί το διαιτολόγιό τους.³⁸ Οι Vijay-Kumar et al μελέτησαν σε μύες τη σχέση του μεταβολικού συνδρόμου με τον υποδοχέα TLR5, μιας δια-μεμβρανικής πρωτεΐνης που εκφράζεται σε αφθονία στον εντερικό βλεννογόνο και που αναγνωρίζει τις βακτηριακές βλεφαρίδες ασκώντας καθοριστικό ρόλο στην έμφυτη ανοσία. Παρατηρήθηκε ότι η απενεργοποίηση του TLR5 οδήγησε σε φαινότυπο που παρομοίαζε με εκείνο του ανθρώπινου μεταβολικού συνδρόμου και σε σοβαρού βαθμού παχυσαρκία.³⁹ Οι ερευνητές διαμόρφωσαν την υπόθεση ότι η απώλεια του TLR5 παράγει αλλαγές στην εντερική μικροχλωρίδα που επάγουν μια χαμηλού βαθμού φλεγμονή.

Όσον αφορά σε ανθρώπους, ανάλυση 154 ατόμων έδειξε ότι το ΑΜ φέρει ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά μεταξύ των μελών μιας οικογένειας, αλλά το ΑΜ του εντέρου κάθε ατόμου ποικίλλει ως προς τα είδη των βακτηρίων. Στην ίδια μελέτη και παρά την ποικιλία μικροοργανισμών στα διάφορα άτομα, διαπιστώθηκε η ύπαρξη ενός πυρήνα «κοινών μικροβιακών γονιδίων» μεταξύ των ατόμων της μελέτης, ο οποίος παραπέμπει σε ομοιότητα σε λειτουργικό επίπεδο. Φαίνεται ότι διαφοροποιήσεις του κοινού αυτού γονιδιακού πυρήνα, που σχετίζονται με διαφορετική εκπροσώπηση των μικροοργανισμών σε επίπεδο φύλου, επηρεάζει τη φυσιολογική λειτουργία, όπως συμβαίνει ενδεχόμενα στην περίπτωση της παχυσαρκίας.⁴⁰

Από τις διάφορες σχετικές μελέτες έχει διαμορφωθεί η υπόθεση ότι το «μικροβίωμα της παχυσαρκίας» ασκεί τη δράση του αυξάνοντας την ικανότητα του ξενιστή να αντλεί περισσότερες θερμίδες από την τροφή που υφίσταται πέψη. Επί πλέον, φαίνεται ότι η χλωρίδα επενεργεί και στα επιθηλιακά κύτταρα έμμεσα ελέγχοντας την κατανάλωση ενέργειας και την αποθήκευσή της. Έχουν προταθεί, όμως, και άλλοι πιθανοί μηχανισμοί μέσω των οποίων το μικροβίωμα οδηγεί σε παχυσαρκία, στους οποίους περιλαμβάνονται η επαγωγή χαμηλού βαθμού φλεγμονής λόγω των λιποπυλυσακχαριτών, η ρύθμιση των γονιδίων του ξενιστή που είναι υπεύθυνα για την κατανάλωση και την αποθήκευση ενέργειας, καθώς και η επικοινωνία του εντερικού μικροβιώματος και του ξενιστή μέσω ενδοκρινικών κυττάρων.⁴¹

Η δράση του μικροβιώματος στις λειτουργίες του οργανισμού είναι πιο πολύπλοκη απ' ό,τι φαίνεται. Για

παράδειγμα, στην επίδραση του εντερικού μικροβιώματος στην αυτοανοσία μπορεί να εμπλέκονται ορμόνες, όπως δείχθηκε σε πρόσφατη μελέτη σε πειραματικό μοντέλο διαβήτη τύπου 1 (T1D) σε μη παχύσαρκα ποντίκια (NOD).⁴² Στη μελέτη αυτή, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι ο φυσιολογικός αποικισμός του εντέρου αρσενικών ποντικών με μικρόβια μικροχλωρίδας αύξανε τα επίπεδα τεστοστερόνης και τους προφύλασε από το διαβήτη. Όταν μετέφεραν μικροχλωρίδα από αρσενικά ποντίκια με T1D σε μη ενήλικα θηλυκά με την ίδια πάθηση, διαπίστωσαν μεταβολή στη μικροχλωρίδα των δεκτών που οδήγησε σε αύξηση των επιπέδων τεστοστερόνης, καθώς και σε μείωση της φλεγμονής στα νησίδια του παγκρέατος και την παραγωγή αυτοαντισωμάτων και εν τέλει προστασία από το διαβήτη. Σε πρόσφατη, καλά σχεδιασμένη κλινική μελέτη θεραπείας της αντίστασης στην ινσουλίνη (που είναι σημαντική για την ανάπτυξη του μεταβολικού συνδρόμου), με τροποποίηση της μικροχλωρίδας, υπήρξαν ελπιδοφόρα αποτελέσματα. Στην εν λόγω μελέτη έγιναν εγχύσεις βακτηρίων από λεπτούς δότες στο λεπτό έντερο ασθενών με αντίσταση στην ινσουλίνη. Παρατηρήθηκε αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη μέσα σε 6 εβδομάδες, χωρίς αλλαγές στη διαίτα, το ορμονικό προφίλ ή το συνολικό αριθμό βακτηρίων. Οι μάρτυρες, που έλαβαν τη δική τους μικροχλωρίδα, δεν παρουσίασαν κάποια μεταβολή.⁴³

Ο μεταβολισμός του γαστρεντερικού μικροβιώματος μπορεί να έχει και αρνητικές συνέπειες στον ξενιστή, οι οποίες να συνδέονται με καρδιαγγειακές παθήσεις. Ως παράδειγμα αναφέρεται ότι η επαγόμενη από μικρόβια μετατροπή της (προσλαμβανόμενης από την τροφή) χολίνης σε τριμεθυλαμίνη συνεισφέρει στην ανάπτυξη μη αλκοολικής στεατο-ηπατίτιδας σε μύες με προδιάθεση.⁴⁴ Μάλιστα, για το ίδιο μεταβολικό μονοπάτι, από τη σύγκριση των μεταβολιτών του πλάσματος σε ασθενείς με καρδιαγγειακές παθήσεις έναντι υγιών μαρτύρων, οι Wang et al βρήκαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της στεφανιαίας νόσου, της περιφερικής αρτηριοπάθειας και του ιστορικού εμφράγματος του μυοκαρδίου με τους μεταβολίτες χολίνη, N-οξειδίο της τριμεθυλαμίνης και τη βεταΐνη. Οι συγγραφείς αναρωτιούνται μήπως φάρμακα, όπως η ασπιρίνη ή οι στατίνες, δρουν μέσω τροποποίησης του ανθρώπινου μικροβιώματος.⁴⁵

3.8. Μικροβίωμα και αλλεργίες

Ο αρχικός χρόνος έκθεσης του οργανισμού, μετά τη γέννηση, στην εντερική μικροχλωρίδα είναι σημαντικός όχι μόνο για την ανάπτυξη και την ωρίμανση της ανοσιακής απάντησης αλλά και για την προστασία από μελλοντικές ανοσοαλλεργικές νόσους. Η εντερική χλωρίδα χρειάζεται για

την εκπαίδευση τόσο της τοπικής ανοσίας του βλεννογόνου όσο και της συστηματικής. Σύμφωνα με επιδημιολογικές παρατηρήσεις, στις αναπτυσσόμενες χώρες παρατηρείται μικρότερη επίπτωση σε αλλεργικά νοσήματα όπως το άσθμα σε σχέση με τις αναπτυγμένες. Για την ερμηνεία των εν λόγω παρατηρήσεων αναπτύχθηκε η «υπόθεση υγιεινής», σύμφωνα με την οποία η μη έκθεση σε παθογόνα βακτήρια ή προϊόντα μη παθογόνων βακτηρίων κατά την παιδική ηλικία μπορεί να οδηγήσει σε ασθματικό φαινότυπο λόγω επίδρασης στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι στις αναπτυσσόμενες χώρες υπάρχουν μεγαλύτερες οικογένειες, στο ότι μεγάλο τμήμα του πληθυσμού διαμένει σε αγροτικές περιοχές με λιγότερο καλές συνθήκες υγιεινής και στο ότι παράλληλα παρατηρείται μικρότερη χρήση αντιβιοτικών και μεγάλος επιπολασμός σε έλμινθες.⁴⁶

Το 2005, ως προέκταση της «υπόθεσης υγιεινής», διατυπώθηκε η «υπόθεση της μικροχλωρίδας», στην οποία προτείνεται ότι αλλαγές στη διαίτα, καθώς και η χρήση αντιβιοτικών στις αναπτυσσόμενες κοινωνίες, οδηγούν σε λιγότερο αναπτυγμένη εντερική μικροχλωρίδα. Αυτό το «ανώριμο» μικροβίωμα, όπως αποκαλέστηκε, καθυστερεί την κατάλληλη ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος, διαταράσσοντας την ορθή αλληλουχία εκείνων των γεγονότων που προωθούν την ανάπτυξη της ανοσιακής ανοχής και, συνεπώς, αυξάνοντας την επίπτωση της αλλεργικής υπερευαισθησίας.⁴⁷

Προοπτικές μελέτες έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι σημαντικές μειώσεις σε ορισμένες κατηγορίες μελών του ΑΜ κατά τα πρώτα στάδια της ζωής συσχετίζονται με την εμφάνιση αλλεργικών συμπτωμάτων. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα των *Bifidobacterium* και των εντεροκόκκων φάνηκε ότι έχουν σχέση με αλλεργικά συμπτώματα στους πρώτους μήνες της ζωής. Πρέπει, όμως, να τονιστεί ότι τα επίπεδα των στελεχών των εντεροκόκκων επέστρεψαν σε εκείνα των υγιών παιδιών ύστερα από 6 μήνες.⁴⁸ Αυξημένος λόγος *Bacteroidetes/Bifidobacterium* αναφέρθηκε κατά το δεύτερο χρόνο της ζωής σε παιδιά που εμφάνισαν συμπτώματα ατοπίας. Παλαιότερη μελέτη έδειξε αφ' ενός ότι τα παιδιά που ανέπτυξαν εν τέλει αλλεργίες ήταν λιγότερο συχνά αποικισμένα με στελέχη *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* και *Clostridium difficile* κατά το 2ο μήνα της ζωής και αφ' ετέρου ότι τα παιδιά που διέμεναν σε μεγαλύτερα νοικοκυριά είχαν μεγαλύτερη ποικιλομορφία στο προφίλ της μικροχλωρίδας τους.⁴⁹

4. ΜΕΤΑΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΤΩΝ ΙΩΝ

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ο ανθρώπινος οργανισμός φιλοξενεί μια μεγάλη ποικιλία ιών, που αποτελούν το

ανθρώπινο «ίωμα» (“virome”). Η πλειοψηφία των ιών είναι βακτηριοφάγοι και μάλιστα οι περισσότεροι από αυτούς έχουν μόλις αρχίσει να χαρακτηρίζονται. Υπολογίζεται πάντως ότι ο αριθμός των ιών υποεκτιμάται, καθ' όσον είναι γνωστό ότι πολλοί ιοί μπορεί να καταστρέφονται εξ αιτίας τεχνικών λόγων κατά την επεξεργασία των δειγμάτων.

Η πρώτη μελέτη του εντερικού «ιώματος» διενεργήθηκε από την ομάδα του Gordon και αφορούσε στους φάγους στο έντερο.⁵⁰ Η μελέτη αυτή αποτελεί συνέχεια πολλών μελετών για τους φάγους μέσα στο φυσικό τους περιβάλλον, οι οποίοι αποτελούν την πλέον άφθονη βιολογική οντότητα πάνω στη Γη, με εκτιμώμενο πληθυσμό 10^{31} ολικά σωματίδια. Στη μελέτη των Minot et al βρέθηκε ότι οι αλληλουχίες των προσομοιαζόντων με ιούς σωματιδίων (virus-like particles, VLP) αντιπροσωπεύουν μειονότητα που κυμαίνεται από 4–17% του συνολικού DNA από τα κόπρανα.⁵¹ Από τις έως πρόσφατες παρατηρήσεις σε δείγματα κοπράνων ανθρώπων προκύπτει ότι το ανθρώπινο ίωμα δεν έχει >1.500 ιότυπους φάγων. Επί πλέον, ο λόγος των ιοτύπων προς τους βακτηριακούς φυλοτύπους πλησιάζει το 1:1 στο έντερο. Ενδεικτικά και σε αντίθεση με τα παραπάνω, ο αντίστοιχος λόγος στους ωκεανούς είναι 10:1. Οι μετρήσεις μέσω μικροσκοπησης έχουν επιβεβαιώσει τους εκτιμώμενους λόγους, δείχνοντας κατά μέσο όρο 10^8 – 10^9 ομοιάζοντα με ιούς σωματίδια ανά γραμμάριο κοπράνων σε σύγκριση με περίπου 10^9 βακτηριακά κύτταρα ανά γραμμάριο.⁵²

Οι διαφορές στο ίωμα ατόμων ανάλογα με την ηλικία, τη συγγενική τους σχέση ή τη διαίτα έχουν καταστεί αντικείμενο αρκετών μελετών. Οι Breitbart et al μελέτησαν τη μεταβολή του ιώματος στη μικροχλωρίδα των κοπράνων μεταξύ της πρώτης και της δεύτερης νεογνικής εβδομάδας.⁵² Διαπίστωσαν ότι οι πληθυσμοί των ιών άλλαξαν δραστικά στα πρώτα στάδια της ανθρώπινης ζωής: Οι περισσότεροι από τους μισούς ιότυπους που ήταν παρόντες στην πρώτη εβδομάδα δεν ήταν ανιχνεύσιμοι κατά τη δεύτερη εβδομάδα. Παρ' ότι τα συγκεκριμένα ευρήματα έρχονται σε αντίθεση με το DNA των ιωμάτων των κοπράνων υγιών ενηλίκων, εν τούτοις είναι συμβατά με τη δυναμική και ταχέως μεταβαλλόμενη σύνθεση της μικροχλωρίδας των παιδιών. Η ομάδα του Gordon, με τη χρήση μεθόδων αλληλούχησης νέας γενεάς που εφάρμοσαν σε τέσσερα ζευγάρια διδύμων και τις μητέρες τους, εντόπισαν ομοιότητες μεταξύ διδύμων και μητέρων, καθώς και σταθερότητα των ιικών κοινοτήτων στα άτομα ξεχωριστά κατά τη διάρκεια ενός έτους.⁵⁰ Παρά τη διαπροσωπική ποικιλία στα ιώματα του εντέρου και τις λειτουργίες των γονιδίων τους, η ατομική ποικιλομορφία ήταν εξαιρετικά χαμηλή, δεδομένου ότι >95% των «ιότυπων» είχαν διατηρηθεί κατά την περίοδο της μελέτης. Οι πληθυσμοί των φάγων, αν και προσλαμβάνονται κατά

κύριο λόγο με το φαγητό σε ημερήσια βάση, φαίνεται ότι είναι «περαστικοί», επειδή άτομα που καταναλώνουν το ίδιο φαγητό δεν φέρονται να έχουν ταυτόσημα ιώματα.⁵¹ Παρ' όλα αυτά, το εντερικό ίωμα μεταβάλλεται ταχέως κατά την τροποποίηση της διαίτας λόγω αλλαγής της αναλογίας των προϋπαρχόντων πληθυσμών, με αποτέλεσμα άτομα με την ίδια διαίτα να έχουν πιο όμοια, όχι όμως ταυτόσημη σύσταση του «ιώματος».

5. ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΚΑΙ ΕΞΩΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

Οι περισσότερες από τις μελέτες έχουν εστιάσει στην επίδραση της εντερικής μικροχλωρίδας στη γαστρεντερική οδό. Ωστόσο, όπως αναλυτικά καταδεικνύεται στην ανασκόπηση των Sekirov et al, υπάρχουν τουλάχιστον σε επίπεδο πειραματοζώων αλληλεπιδράσεις του εντερικού ΑΜ με όργανα εκτός του γαστρεντερικού συστήματος.¹ Συνοπτικά, αξίζει να αναφερθούν τα εξής: (α) Μειωμένη καρδιακή απόδοση σε στείρους μικροβίων μύες σε σχέση με τους «φυσιολογικούς» μύες, (β) σε στείρους μικροβίων μύες προκαλείται διαταραχή στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος με ανωμαλίες που κυμαίνονται από τη διαταραχή του υποθαλαμο-υποφυσιο-επινεφριδιακού άξονα έως τη μείωση της αντίληψης του άλγους κατά τη φλεγμονή ("brain-gut-gut microbiota axis") και (γ) ο έλεγχος της όρεξης μπορεί ενδεχομένως να ρυθμίζεται εν μέρει από την εντερική μικροχλωρίδα. Πράγματι, έχουν βρεθεί αυτοαντισώματα που στοχεύουν ορμόνες-κλειδιά, τόσο σε ανθρώπους όσο και σε τρωκτικά. Σε αρκετές περιπτώσεις υπάρχει ομολογία των επιτόπων-στόχων με μέλη της εντερικής μικροχλωρίδας.⁵³

Η πλέον απρόσμενη, αν και αμφιλεγόμενη, όμως συσχέτιση είναι με τις αυτιστικές διαταραχές. Η σύνδεση μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος και του αυτισμού υποστηρίζεται από τις ακόλουθες παρατηρήσεις: (α) η εκδήλωση της νοσολογικής αυτής οντότητας συχνά ακολουθεί κάποια αντιμικροβιακή θεραπεία, (β) υπάρχουν γαστρεντερικές ανωμαλίες κατά την εμφάνιση του αυτισμού, οι οποίες συχνά επιμένουν, (γ) τα αυτιστικά συμπτώματα μπορεί ορισμένες φορές να μειωθούν από χορήγηση βανκομυκίνης *per os*, ενώ συμβαίνει επανεκδήλωση των συμπτωμάτων μετά από τη διακοπή της θεραπείας.⁵⁴ Η ενδεχόμενη επίδραση της εντερικής μικροχλωρίδας μπορεί να ασκείται είτε μέσω διαταραχών στη σύνθεσή της, είτε μέσω διαφορών στα προϊόντα ζύμωσης των μικροβίων της μικροχλωρίδας, όπως τα ελαφράς αλύσου λιπαρά οξέα ή η αμμωνία, είτε, τέλος, στην αυξημένη παραγωγή νευροτοξινών.⁵⁵ Σε πρόσφατη όμως μελέτη διαπιστώθηκε ότι η μικροχλωρίδα παιδιών με αυτισμό δεν διέφερε από την αντίστοιχη μικροχλωρίδα των

μαρτύρων.⁵⁶ Το θέμα πάντως δεν θεωρείται ότι έχει λήξει, αλλά για να αποσαφηνιστεί ο ρόλος των μικροβίων της εντερικής μικροχλωρίδας στην επαγωγή συμπεριφορών αυτιστικού τύπου θα απαιτηθούν προοπτικές μελέτες συσχέτισης μικροχλωρίδας και αυτισμού, καθώς και μελέτες παρέμβασης και θεραπείας με μεταβολές στη μικροχλωρίδα, π.χ. με τη χρήση προβιοτικών βακτηρίων.

6. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΜΙΚΡΟΒΙΩΜΑ ΣΤΗ «ΜΕΤΑΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ» ΕΠΟΧΗ

Μέλη του ΑΜ του εντέρου μπορούν να επηρεάσουν τον ξενοβιοτικό (xenobiotic) μεταβολισμό αφ' ενός τροποποιώντας την έκφραση γονιδίων του ξενιστή και αφ' ετέρου παράγοντας συστατικά που επιδρούν σε μεταβολικά μονοπάτια εκτός της γαστρεντερικής οδού. Οι επιδράσεις αυτές φαίνεται ότι είναι αμοιβαίες, καθώς η έκθεση σε ξενοβιοτικά παράγωγα και ειδικότερα στα αντιβιοτικά δρουν τροποποιητικά πάνω στη δομή και τη λειτουργία των ενδογενών μικροβιακών κοινοτήτων.⁵⁷ Στο πλαίσιο αυτής της αλληλεπίδρασης, φαίνεται ότι η ικανότητα του οργανισμού να μεταβολίζει φαρμακολογικές ουσίες επηρεάζεται έμμεσα ή και άμεσα από το ΑΜ του εντέρου, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει είτε σε ενεργοποίηση είτε και σε απενεργοποίηση των συστατικών ενός φαρμάκου, όπως φαίνεται από τα παραδείγματα της σουλφασαλαζίνης και της λεβοντόπα. Η σουλφασαλαζίνη, που, ως γνωστόν, χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, υπόκειται σε μεταβολισμό από μικροβιακές αζωτο-αναγωγάσες που διασπούν το φάρμακο σε δύο ουσίες: το 5-αμινοσαλικυλικό οξύ, που είναι δραστικό, και τη σουλφοπυριδίνη, η οποία θεωρείται ότι προκαλεί τις ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με το εν λόγω φάρμακο. Το αντιπαρκινσονικό φάρμακο λεβοντόπα είναι σε θέση να διέλθει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, ύστερα από τον οποίο υφίσταται αποκαρβοξυλίωση προκειμένου να μετατραπεί σε ντοπαμίνη στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Ωστόσο, το ΑΜ του εντέρου μπορεί να πραγματοποιήσει επίσης αυτή τη μετατροπή, με αποτέλεσμα να συμβάλλει στην ιδιοσυγκρασιακή αντίδραση των ασθενών στη θεραπεία με λεβοντόπα.^{57,58}

Τελευταία, εξετάζεται η σχέση της εντερικής μικροχλωρίδας με την ανάπτυξη βαριάς εντερικής βλεννογονίτιδας που επάγεται μετά από χημειοθεραπεία, καθ' όσον έχει παρατηρηθεί ταυτόχρονη μείωση της βακτηριακής ποικιλομορφίας.⁵⁹ Διαμορφώθηκε έτσι η υπόθεση ότι η συμβιωτική εντερική μικροχλωρίδα μπορεί να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο τόσο στην επαγόμενη από την ακτινοβολία όσο και σε εκείνη από τη χημειοθεραπεία βλεννογονίτιδα, καθώς και ότι η τροποποίηση της εντερικής μικροχλωρίδας μπορεί

να μειώσει την προστασία που παρέχει αυτή στα εντεροκύτταρα έναντι βλαβερών ερεθισμάτων.⁵⁹ Το γεγονός αυτό συμφωνεί με προηγούμενες παρατηρήσεις ότι η χορήγηση προβιοτικών φαρμακευτικών προϊόντων μπορεί να αμβλύνει τις ανεπιθύμητες ενέργειες στην εντερική λειτουργία κατά τη διάρκεια θεραπείας με χημειοθεραπεία ή ακτινοβολία.⁶⁰

7. ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΑ ΣΤΗ ΜΕΤΑΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΕΠΟΧΗ

Τα προβιοτικά ορίζονται ως «ζωντανοί μικροοργανισμοί, οι οποίοι χορηγούμενοι σε επαρκή ποσότητα έχουν ωφέλιμη επίδραση στον ξενιστή».⁶¹ Ο ορισμός αναφέρεται σε στελέχη μικροβίων για τα οποία έχει αποδειχθεί με επιστημονικό τρόπο ευεργετική επίδραση στον οργανισμό. Τα περισσότερα στελέχη βακτηρίων που χρησιμοποιούνται σήμερα ως προβιοτικά έχουν απομονωθεί από την εντερική μικροχλωρίδα υγιών ατόμων και ανήκουν κυρίως στα γένη *Lactobacillus* και *Bifidobacterium*. Όμως, αν και ορισμένες ωφέλιμες επιδράσεις έχουν αποδειχθεί με πειράματα σε ζώα ή κλινικές μελέτες σε ανθρώπους, άλλες επιδράσεις είναι υποθετικές και δεν έχουν αποδειχθεί. Σε ορισμένες μάλιστα περιπτώσεις υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, ανάλογα με τον πληθυσμό που ελέγχεται. Συνολικά, θα μπορούσε να λεχθεί ότι μέχρι σήμερα η ευεργετική δράση των προβιοτικών δεν έχει απόλυτα τεκμηριωθεί, με εξαίρεση ορισμένες παθήσεις.

Οι δράσεις των προβιοτικών φαίνεται ότι ασκούνται μέσω τροποποίησης της εντερικής μικροχλωρίδας ή της δραστηριότητάς της και αυτό μπορεί να συμβαίνει με διάφορους τρόπους, όπως (α) παραγωγή αντιμικροβιακών ή μεταβολικών παραγόντων που αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων βακτηρίων στο έντερο, (β) ενίσχυση της ακεραιότητας του εντερικού φραγμού, με συνέπεια ελαττωμένη αλλόθεση μικροβίων, (γ) τροποποίηση των μηχανισμών ανοσίας του γαστρεντερικού συστήματος, με συνέπεια διατήρηση ή τροποποίηση της ανοσιακής ανοχής προς τα μικρόβια του εντερικού αυλού.⁶² Εάν λοιπόν η δράση των προβιοτικών ασκείται μέσω επίδρασής τους στην εντερική μικροχλωρίδα, τότε η ποικιλομορφία των εντερικών μικροχλωρίδων ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, τη φυλή κ.λπ. μπορεί να είναι υπεύθυνη για τα αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με την επίδραση των προβιοτικών. Οι νέες τεχνολογίες που αναπτύχθηκαν για τη μελέτη των μικροχλωρίδων πιστεύεται ότι θα επιτρέψουν τη μελέτη των επιδράσεων των ωφέλιμων μικροβίων στην εντερική μικροχλωρίδα. Οι εντερικές μικροχλωρίδες, που μέσω των οποίων πιστεύεται ότι επιδρούν τα προβιοτικά, είναι πλέον καλύτερα καθορισμένες. Γνωρίζουμε πολύ καλύτερα σήμερα απ' ό,τι πριν μία δεκαετία τις διαφορές στη σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας μεταξύ φυσιολογικών ατόμων

και ατόμων με συγκεκριμένες παθήσεις και έτσι μπορεί να σχεδιαστούν συστηματικές μελέτες για τη μεταβολή που υφίσταται η εντερική μικροχλωρίδα κατά τη χορήγηση προβιοτικών. Επί πλέον, εκτεταμένη γονιδιακή ανάλυση έχει αναδείξει τα γονίδια τα οποία επιτρέπουν σε στελέχη *Lactobacillus* ή *Bifidobacterium* που χρησιμοποιούνται ως προβιοτικά να προσαρμόζονται στο εντερικό περιβάλλον, να προσκολλώνται στο βλεννογόνο και να αλληλεπιδρούν με το ανοσοποιητικό σύστημα. Επομένως, σήμερα υπάρχει η δυνατότητα screening ιδιοτήτων προτεινομένων προβιοτικών στελεχών και επιλογής των πλέον κατάλληλων για περαιτέρω μελέτη.⁶¹ Δεδομένου μάλιστα ότι κάθε άτομο έχει ξεχωριστή χλωρίδα, δεν αποκλείεται στο μέλλον να επιλέγονται προβιοτικά σχεδιασμένα για κάθε άτομο, ανοίγοντας μια ακόμη προοπτική για την εφαρμογή εξατομικευμένης Ιατρικής.⁶³ Συνολικά, οι νεότερες γνώσεις θα βελτιώσουν την επιλογή στελεχών για να δοκιμαστούν ως προς τις προβιοτικές ιδιότητές τους, θα βοηθήσουν στην ανάδειξη καθορισμένων στόχων θεραπείας, με μετρήσιμα αποτελέσματα, και θα δώσουν νέα ώθηση στον πολλά υποσχόμενο τομέα των προβιοτικών.⁶⁴

8. ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Ο προσδιορισμός των χαρακτηριστικών του ΑΜ που εμπλέκονται στην ανάπτυξη του ανθρώπου και τη λειτουργία τόσο σε φυσιολογικές καταστάσεις όσο και σε ασθένειες αναμένεται στο απώτερο μέλλον να βελτιώσει ποικίλες πτυχές της παθολογίας του ανθρώπου. Η βελτίωση των διαθέσιμων εργαλείων για την έρευνα αναφορικά με το ΑΜ και η μετάβαση από την προσέγγιση «ποιος βρίσκεται εκεί;» στο ερώτημα «τι γίνεται εκεί;», αναμένεται να επεκτείνει τις γνώσεις μας στην εν λόγω θεματική.¹ Ενώ έως τώρα η Ιατρική και η Βιολογία βασίζονταν στη διαμόρφωση υποθέσεων και την ακόλουθη επαλήθευσή τους μέσω της πειραματικής διαδικασίας, η μελέτη του ΑΜ με τη χρησιμοποίηση των νέων μεθόδων της γονιδιωματικής αντιστρέφει την παραπάνω μέθοδο, καθ' όσον πρώτα συλλέγεται πλήθος δεδομένων και έπειτα επιχειρείται η συσχέτισή τους με φαινόμενα της φυσιολογίας ή με νοσολογικές οντότητες. Η πολυπλοκότητα των συγκεκριμένων συσχετίσεων απαιτεί μια διαθεματική προσέγγιση με συμμετοχή των επιστημών της γονιδιωματικής, της ανοσολογίας, της μεταβολωμικής (metabolomics), της οικολογίας και των επιστημών δημόσιας υγείας. Οι επιδράσεις της εντερικής μικροχλωρίδας θα πρέπει να μελετηθούν και υπό το πρίσμα της εξέλιξης των ειδών. Για παράδειγμα, οι μεταβολές στη μικροχλωρίδα που σχετίζονται με εναπόθεση λιπώδους ιστού μπορεί να έχουν φυσιολογικό ρόλο, π.χ. για την αυξημένη πρόσληψη ενέργειας από την τροφή κατά τη διάρκεια της κύησης και

του θηλασμού. Πράγματι, η έγκυος γυναίκα αναπτύσσει πολλά από τα φαινόμενα του μεταβολικού συνδρόμου: εναπόθεση λίπους, αντίσταση στην ινσουλίνη, αύξηση μικροβιακού φορτίου με μεταβολή στην αναλογία *Firmicutes/Bacterioidetes*.⁶⁵ Τα στοιχεία αυτά δείχνουν ότι το μεταβολικό σύνδρομο μιμείται μηχανισμούς προσαρμογής, οι οποίοι στοχεύουν στην αυξημένη πρόσληψη και αποθήκευση ενέργειας κατά τα απαιτητικά στάδια της αναπαραγωγής.

Τα αποτελέσματα των μελετών σχετικά με το ανθρώπινο γονιδίωμα ανοίγουν νέους δρόμους τόσο στη διάγνωση παθήσεων με τη χρήση βιοδεικτών που θα διακρίνουν τις διάφορες σχέσεις μεταξύ του ξενιστή και του συνόλου του ΑΜ, όσο και στη θεραπευτική με καθορισμό της ποσότητας και της ποικιλότητας των στελεχών βακτηρίων που μπορεί

να δοθούν θεραπευτικά, πρακτική που σήμερα γίνεται εμπειρικά με μεταμόσχευση χλωρίδων.⁶⁶ Η ατομικότητα του εντερικού μικροβιώματος υποδεικνύει την ανάγκη για εξατομικευμένη θεραπευτική αντιμετώπιση στο μέλλον παθήσεων που σχετίζονται με δυσβίωση. Πάντως, η πολυπλοκότητα του ΑΜ είναι μεγάλη και η εφαρμογή των νέων ιδεών απαιτεί υπομονή και καλά σχεδιασμένες τυχαίοποιημένες μελέτες. Στην παρούσα φάση, δεν πρέπει να υπάρχει υπέρμετρος ενθουσιασμός για τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών σε πειραματόζωα σχετικά με τη θεραπευτική παρέμβαση στις εντερικές μικροχλωρίδες, αλλά να αναμένονται επαληθεύσεις των εν λόγω μελετών. Συνολικά, η μελέτη των μικροχλωρίδων αναμένεται να αναδείξει νέες θεραπευτικές δυνατότητες σε σειρά παθήσεων από τις αυτοάνοσες μέχρι τις νεοπλασματικές.

ABSTRACT

Human enteric microbiome: Its role in health and disease

A.F.A. MENTIS,¹ F. GYPAS,² A.F. MENTIS³

¹Public Health Laboratories, Hellenic Pasteur Institute, Athens, ²Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, ³Greece

Archives of Hellenic Medicine 2013, 30(3):272–288

The study of the human commensal micro-flora has recently regained the interest of the scientific community, particularly after the development of genomics and bio-informatics. The genes of the microbes found in the various different cavities of the human organism are collectively called the human microbiome (HM). This is a complex system, which is estimated to consist of approximately 10^{14} bacterial cells, thus being 10 times larger than the total of human cells. Almost 400–500 different types of microbes form the intestinal flora of the HM. The commensal bacteria in the gut microbiota interact with each other and with the host immune system, contributing to the homeostasis of the organism. The intestinal microbiome has been shown to differ among individuals of the same sex, between sexes and between individuals of different ages. Each individual human can be characterized by his/her own intestinal microbial fingerprint, which may be useful in the future for individualized medicine. Alteration in the composition and function of the commensal gut microbiota has been associated with complex diseases such as inflammatory bowel diseases (IBD), colorectal cancer, allergies and obesity. Manipulation of the gut microbiota by fecal microbiota transplantation is an effective and safe treatment of IBD and infection with *C. difficile*, but the use of pre- and pro-biotics for the manipulation of microbiota should be reconsidered in the light of the new information now available. This is a review of recent findings concerning the role of the enteric HM in the development of the immune system, and its connection to gut-related and non-gastroenterological diseases.

Key words: Gut microbiota, Human microbiome, Metagenomics

Βιβλιογραφία

- SEKIROV I, RUSSELL SL, ANTUNES LC, FINLAY BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev* 2010, 90:859–904
- DUMAS ME. The microbial-mammalian metabolic axis: Beyond simple metabolism. *Cell Metab* 2011, 13:489–490
- FRAHER MH, O'TOOLE PW, QUIGLEY EM. Techniques used to characterize the gut microbiota: A guide for the clinician. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012, 9:312–322
- HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM. Structure, functions and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012, 486:207–214
- GORDON JI. Honor thy gut symbionts redux. *Science* 2012, 336:1251–1253

6. ECKBURG PB, BIK EM, BERNSTEIN CN, PURDOM E, DETHLEFSEN L, SARGENT M ET AL. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005, 308:1635–1638
7. UBEDA C, PAMER EG. Antibiotics, microbiota, and immune defense. *Trends Immunol* 2012, 33:459–466
8. JEFFERY IB, CLAEISSON MJ, O'TOOLE PW, SHANAHAN F. Categorization of the gut microbiota: Enterotypes or gradients? *Nat Rev Microbiol* 2012, 10:591–592
9. SCHLOISSNIG S, ARUMUGAM M, SUNAGAWA S, MITREVA M, TAP J, ZHU A ET AL. Genomic variation landscape of the human gut microbiome. *Nature* 2013, 493:45–50
10. FAUST K, SATHIRAPONGSASUTI JF, IZARD J, SEGATA N, GEVERS D, RAES J ET AL. Microbial co-occurrence relationships in the human microbiome. *PLoS Comput Biol* 2012, 8:e1002606
11. CHASTON J, DOUGLAS AE. Making the most of “omics” for symbiosis research. *Biol Bull* 2012, 223:21–29
12. CERF-BENSUSSAN N, GABORIAU-ROUTHIAU V. The immune system and the gut microbiota: Friends or foes? *Nat Rev Immunol* 2010, 10:735–744
13. MAZMANIAN SK, LIU CH, TZIANABOS AO, KASPER DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* 2005, 122:107–118
14. CLARKE TB, DAVIS KM, LYSENKO ES, ZHOU AY, YU Y, WEISER JN. Recognition of peptidoglycan from the microbiota by Nod1 enhances systemic innate immunity. *Nat Med* 2010, 16:228–231
15. VAUGHAN EE, SCHUT F, HEILIG HG, ZOETENDAL EG, DE VOS WM, AKKERMANS AD. A molecular view of the intestinal ecosystem. *Curr Issues Intest Microbiol* 2000, 1:1–12
16. MÄNDAR R, MIKELSAAR M. Transmission of mother’s microflora to the newborn at birth. *Biol Neonate* 1996, 69:30–35
17. CABRERA-RUBIO R, COLLADO MC, LAITINEN K, SALMINEN S, ISOLAURI E, MIRA A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr* 2012, 96:544–551
18. KOREN O, GOODRICH JK, CULLENDER TC, SPOR A, LAITINEN K, BÄCKHED HK ET AL. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell* 2012, 150:470–480
19. CLAEISSON MJ, JEFFERY IB, CONDE S, POWER SE, O’CONNOR EM, CUSACKS ET AL. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature* 2012, 488:178–184
20. ADLERBERTH I, WOLD AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr* 2009, 98:229–238
21. DE FILIPPO C, CAVALIERI D, DI PAOLA M, RAMAZZOTTI M, POULLET JB, MASSART S ET AL. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010, 107:14691–14696
22. DETHLEFSEN L, HUSE S, SOGIN ML, RELMAN DA. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol* 2008, 6:e280
23. ANTUNES LC, HAN J, FERREIRA RB, LOLIĆ P, BORCHERS CH, FINLAY BB. Effect of antibiotic treatment on the intestinal microbiome. *Antimicrob Agents Chemother* 2011, 55:1494–1503
24. JERNBERG C, LÖFMARKS S, EDLUND C, JANSSON JK. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J* 2007, 1:56–66
25. HASEGAWA M, KAMADA N, JIAO Y, LIU MZ, NÚÑEZ G, INOHARA N. Protective role of commensals against *Clostridium difficile* infection via an IL-1 β -mediated positive-feedback loop. *J Immunol* 2012, 189:3085–3091
26. ANDERSON JL, EDNEY RJ, WHELAN K. Systematic review: Faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012, 36:503–516
27. VAN NOOD E, VRIEZE A, NIEUWDORP M, FUENTES S, ZOETENDAL EG, DEVOS WM ET AL. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013, 368:407–415
28. GOUGH E, SHAIKH H, MANGES AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011, 53:994–1002
29. SARTOR RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2008, 134:577–594
30. TJALSMA H, BOLEIJ A, MARCHESI JR, DUTILH BE. A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer: Beyond the usual suspects. *Nat Rev Microbiol* 2012, 10:575–582
31. MOORE WE, MOORE LH. Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer. *Appl Environ Microbiol* 1995, 61:3202–3207
32. SCANLAN PD, SHANAHAN F, CLUNE Y, COLLINS JK, O’SULLIVAN GC, O’RIORDAN M ET AL. Culture-independent analysis of the gut microbiota in colorectal cancer and polyposis. *Environ Microbiol* 2008, 10:789–798
33. ARTHUR JC, PEREZ-CHANONA E, MÜHLBAUER M, TOMKOVICH S, URONIS JM, FAN TJ ET AL. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science* 2012, 338:120–123
34. GRIVENNIKOV SI, WANG K, MUCIDA D, STEWART CA, SCHNABL B, JAUCH D ET AL. Adenoma-linked barrier defects and microbial products drive IL-23/IL-17-mediated tumour growth. *Nature* 2012, 491:254–258
35. ABEYSURIYA V, DEEN KI, WIJESURIYA T, SALGADO SS. Microbiology of gallbladder bile in uncomplicated symptomatic cholelithiasis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2008, 7:633–637
36. WHITE JS, HOPER M, PARKS RW, CLEMENTS WD, DIAMOND T. Patterns of bacterial translocation in experimental biliary obstruction. *J Surg Res* 2006, 132:80–84
37. LIU Q, DUAN ZP, HA DK, BENGMARK S, KURTOVIC J, RIORDAN SM. Synbiotic modulation of gut flora: Effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2004, 39:1441–1449
38. HULLAR MA, LAMPE JW. The gut microbiome and obesity. *Nestlé Nutr Inst Workshop Ser* 2012, 73:67–79
39. VIJAY-KUMAR M, AITKEN JD, CARVALHO FA, CULLENDER TC, MWANGI S, SRINIVASAN S ET AL. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science* 2010, 328:228–231
40. TURNBAUGH PJ, HAMADY M, YATSUNENKO T, CANTAREL BL, DUNCAN A, LEY RE ET AL. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009, 457:480–484
41. LEY RE. Obesity and the human microbiome. *Curr Opin Gastroenterol* 2010, 26:5–11
42. MARKLE JG, FRANK DN, MORTIN-TOTH S, ROBERTSON CE, FEAZEL LM, ROLLE-KAMPCZYK U ET AL. Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoim-

- munity. *Science* 2013, 339:1084–1088
43. VRIEZE A, VAN NOOD E, HOLLEMAN F, SALOJÄRVI J, KOOTTE R, BARTELSMAN JF ET AL. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012, 143:913–916
 44. HOWITT MR, GARRETT WS. A complex microworld in the gut: Gut microbiota and cardiovascular disease connectivity. *Nat Med* 2012, 18:1188–1189
 45. WANG Z, KLIPFELL E, BENNETT BJ, KOETH R, LEVISON BS, DUGAR B ET AL. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011, 472:57–63
 46. FERREIRA C, VELDHOFEN M. Host and microbes date exclusively. *Cell* 2012, 149:1428–1430
 47. NOVERR MC, HUFFNAGLE GB. The “microflora hypothesis” of allergic diseases. *Clin Exp Allergy* 2005, 35:1511–1520
 48. SJÖGREN YM, JENMALM MC, BÖTTCHER MF, BJÖRKSTÉN B, SVERREMARK-EKSTRÖM E. Altered early infant gut microbiota in children developing allergy up to 5 years of age. *Clin Exp Allergy* 2009, 39:518–526
 49. BJÖRKSTÉN B, SEPP E, JULGE K, VOORT T, MIKELSAAR M. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol* 2001, 108:516–520
 50. REYES A, HAYNES M, HANSON N, ANGLY FE, HEATH AC, ROHWER F ET AL. Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature* 2010, 466:334–338
 51. MINOT S, SINHA R, CHEN J, LI H, KEILBAUGH SA, WU GD ET AL. The human gut virome: Inter-individual variation and dynamic response to diet. *Genome Res* 2011, 21:1616–1625
 52. BREITBART M, HAYNES M, KELLEY S, ANGLY F, EDWARDS RA, FELTS B ET AL. Viral diversity and dynamics in an infant gut. *Res Microbiol* 2008, 159:367–373
 53. FETISSOV SO, HAMZE SINNO M, COÉFFIER M, BOLE-FEYSOT C, DUCROTTÉ P, HÖKFELT T ET AL. Autoantibodies against appetite-regulating peptide hormones and neuropeptides: Putative modulation by gut microflora. *Nutrition* 2008, 24:348–359
 54. BENACH JL, LI E, MCGOVERN MM. A microbial association with autism. *MBio* 2012, 3:(1)
 55. LOUIS P. Does the human gut microbiota contribute to the etiology of autism spectrum disorders? *Dig Dis Sci* 2012, 57:1987–1989
 56. GONDALIA SV, PALOMBO EA, KNOWLES SR, COX SB, MEYER D, AUSTIN DW. Molecular characterization of gastrointestinal microbiota of children with autism (with and without gastrointestinal dysfunction) and their neurotypical siblings. *Autism Res* 2012, 5:419–427
 57. HAISER HJ, TURNBAUGH PJ. Is it time for a metagenomic basis of therapeutics? *Science* 2012, 336:1253–1255
 58. CLAYTON TA, BAKER D, LINDON JC, EVERETT JR, NICHOLSON JK. Pharmacometabolomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009, 106:14728–14733
 59. VAN VLIET MJ, HARMSSEN HJ, DE BONT ES, TISSING WJ. The role of intestinal microbiota in the development and severity of chemotherapy-induced mucositis. *PLoS Pathog* 2010, 6:e1000879
 60. PRISCIANDARO LD, GEIER MS, BUTLER RN, CUMMINS AG, HOWARTH GS. Evidence supporting the use of probiotics for the prevention and treatment of chemotherapy-induced intestinal mucositis. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2011, 51:239–247
 61. GUEIMONDE M, COLLADO MC. Metagenomics and probiotics. *Clin Microbiol Infect* 2012, 18(Suppl 4):32–34
 62. SGOURAS DN, PANAYOTOPOULOU EG, MARTINEZ-GONZALEZ B, PETRAKI K, MICHPOULOS S, MENTIS A. *Lactobacillus johnsonii* La1 attenuates *Helicobacter pylori*-associated gastritis and reduces levels of proinflammatory chemokines in C57BL/6 mice. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005, 12:1378–1386
 63. BARZEGARI A, SAEI AA. Designing probiotics with respect to the native microbiome. *Future Microbiol* 2012, 7:571–575
 64. HEMARAJATA P, VERSALOVIC J. Effects of probiotics on gut microbiota: Mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therap Adv Gastroenterol* 2013, 6:39–51
 65. KOREN O, GOODRICH JK, CULLENDER TC, SPOR A, LAITINEN K, BÄCKHED HK ET AL. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell* 2012, 150:470–480
 66. YOUNG W, ROY NC, LEE J, LAWLEY B, OTTER D, HENDERSON G ET AL. Changes in bowel microbiota induced by feeding weanlings resistant starch stimulate transcriptomic and physiological responses. *Appl Environ Microbiol* 2012, 78:6656–6664
- Corresponding author:*
- A.F. Mentis, Public Health Laboratories, Hellenic Pasteur Institute, 127 Vasilissis Sophias Ave., GR-115 21 Athens, Greece
e-mail: mentis@pasteur.gr