



ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ & ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ:

“Το ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα και η επίδρασή του σε τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες”



Τσεπέλε Ευαγγελία

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: κα. Ψαρουδάκη Αντωνία

ΣΗΤΕΙΑ

ΜΑΡΤΙΟΣ 2021



HELLENIC MEDITERRANEAN UNIVERSITY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF NUTRITION & DIETETICS SCIENCES

THESIS:

**“Human intestinal microbiome and its effect on
food allergies and intolerances”**



Tsepele Evangelia

Supervisor: Dr. Psaroudaki Antonia

SITIA

MARCH 2021

Υπέθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν. 1599/1986 και τα άρθρα 2,4,6 παρ. 3 του Ν. 1256/1982, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής εργασίας και δεν προσβάλλει κάθε μορφής πνευματικά δικαιώματα τρίτων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον. Αποδέχομαι ότι η Βιβλιοθήκη μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από την ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο, καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Ευχαριστίες-Αφιέρωση:

Ευχαριστώ πολύ:

Τον Τριαδικό Θεό και Την Παναγία, την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κυρία Ψαρουδάκη Αντωνία, τα μέλη της τριμελούς επιτροπής κύριο Φραγκιαδάκη Γεώργιο και κυρία Σφακιανάκη Ειρήνη, καθώς και την οικογένειά μου.

Αφιέρωση:

“Στους αγαπημένους μου Αθανάσιο και Ευαγγελία Βιέννα”

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:

Περίληψη:	8
Abstract:	9
Ευρετήριο ορολογιών:	11
Εισαγωγή.....	12
Κεφάλαιο 1: Γνωρίζοντας τον εντερικό μικροβιόκοσμο.....	14
1.1 Εντερικό μικροβίωμα και λειτουργίες του.....	14
1.2 Τα διάφορα είδη των μικροοργανισμών που κατοικούν στο έντερο.....	15
1.3 Η δημιουργία του εντερικού μικροβιώματος από την γέννηση του ατόμου και η σημασία του μητρικού γάλακτος στην ανάπτυξή του.....	17
1.4 Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σύνθεση και την ανάπτυξη του εντερικού μικροβιώματος:.....	21
1.4.1 Η διατροφή του ατόμου-ξενιστή.	21
1.4.2 Οι διάφορες δίαιτες.	23
1.4.3 ΡΗ, χολικά άλατα και πεπτικά ένζυμα.	24
1.4.4 Η γεωγραφική θέση.	26
1.4.5 Η κατάσταση της υγείας του βρέφους και της μητέρας.....	26
1.4.6 Οι θεραπείες με αντιβιοτικά και οι βακτηριακές λοιμώξεις.	27
1.5 Ο συσχετισμός μεταξύ της αλληλεπίδρασης της τροφής με το εντερικό μικροβίωμα.	28
Κεφάλαιο 2: Η γενική ανάλυση της συσχέτισης του εντερικού μικροβιώματος με τις δυσανεξίες και τις αλλεργίες.	32
2.1 Η συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με τις διάφορες αλλεργίες και δυσανεξίες στον άνθρωπο.	32
2.1.1 Οι πηγές άντλησης της γνώσης για τη συσχέτιση αυτή.	35
2.2 Η θεραπευτική χρησιμότητα του μικροβιώματος του εντέρου στις αλλεργίες και δυσανεξίες και οι τρόποι χειρισμού τους, προς όφελος του ξενιστή.	36
2.2.1 Προβιοτικά	37
2.2.2 Πρεβιοτικά	40
2.2.3 Συνβιωτικά	41
2.2.4 Μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων:.....	43
2.3 Παρουσίαση του εντερικού μικροβιώματος ως στόχο για καινοτόμες στρατηγικές κατά των τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών.	47
2.4 Τα χαρακτηριστικά του εντερικού μικροβιώματος στις τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες και η ανίχνευση του ρόλου του σε αυτές.....	49
2.5 Η κλινική συσχέτιση της δυσβίωσης του εντερικού μικροβιώματος με διάφορες ασθένειες, σε παιδιά με τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες.	52

2.6 Η σημασία του άξονα εντερικού μικροβιώματος-διατροφής-αλλεργιών και δυσανεγιών.	53
2.6.1 Ο τρόπος με τον οποίο η Μεσογειακή Διατροφή επηρεάζει τις διατροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες, μέσω του εντερικού μικροβιώματος.	54
Κεφάλαιο 3: Εστιάζοντας στη συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με τις διάφορες τροφικές δυσανεξίες.	56
3.1 Εντερικό μικροβίωμα και δυσανεξία στη λακτόζη.	56
3.1.1 Ο σημαντικός ρόλος των ολιγοσακχαριτών υψηλής καθαρότητας ‘GOS’ στο εντερικό μικροβίωμα απόμων με δυσανεξία στη λακτόζη.	57
3.1.2 Οι επιδράσεις του Bifidobacterium longum και του Lactobacillus rhamnosus στο εντερικό μικροβίωμα ασθενών με δυσανεξία στη λακτόζη.	59
3.2 Εντερικό μικροβίωμα και δυσανεξία στη γλουτένη-κοιλιοκάκη.	62
3.2.1 Παράγοντες που ρυθμίζουν τις αποικίες του εντερικού μικροβιώματος στην κοιλιοκάκη.	64
3.2.2 Η επίδραση του εντερικού μικροβιώματος στην επεξεργασία της γλουτένης.	66
3.2.3 Η επίδραση της δυσβίωσης του μικροβιώματος στο φραγμό του εντέρου, στην κοιλιοκάκη.	67
3.2.4 Ο ρόλος των προβιοτικών στην κοιλιοκάκη.	68
3.3 Εντερικό μικροβίωμα και Ιδιοπαθής Φλεγμονώδης Νόσος του Εντέρου-ΙΦΝΕ.	69
3.3.1 Ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στις Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσους του Εντέρου, αποκαλύπτεται βάση των γονιδίων προδιάθεσης.	73
3.3.2 Ο τρόπος με τον οποίο η δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος μπορεί να οδηγήσει σε εντερική φλεγμονή.	74
3.3.3 Θεραπείες για τις Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσους του Εντέρου, οι οποίες βασίζονται στο εντερικό μικροβίωμα.	75
3.3.4 Οι επιδράσεις της φαρμακευτικής αγωγής των Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου, στο εντερικό μικροβίωμα.	77
3.4 Η εμπλοκή του εντερικού μικροβιώματος στη δυσανεξία της γλυκόζης, προερχόμενης από οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα.	78
Κεφάλαιο 4: Εντερικό μικροβίωμα και διάφορες τροφικές και μη αλλεργίες.	82
4.1 Το εντερικό μικροβίωμα και η αλλεργία στα φιστίκια.	82
4.2 Η συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με την εμφάνιση του αλλεργικού άσθματος.	83
4.3 Η δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος και η συσχέτιση αυτής με την αλλεργική ρινίτιδα σε παιδιά.	86
4.4 Ο ρόλος των προβιοτικών στην αντιμετώπιση της αλλεργικής πρωκτοκολίτιδας.	89
4.5 Η συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με την Ηωσινοφιλική Οισοφαγίτιδα.	92

4.6 Η νεκρωτική εντεροκολίτιδα στα νεογνά και η συσχέτιση αυτής με το μικροβίωμα του εντέρου.	95
--	----

Συμπεράσματα-Συζήτηση:	104
------------------------------	-----

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:	106
---------------------	-----

Περίληψη:

Το μικροβίωμα του εντέρου αποτελεί ένα σύνθετο, δυναμικό μικροβιακό οικοσύστημα, με καθοριστικό ρόλο για την υγεία του ατόμου ξενιστή. Η διατροφή, επηρεάζει άμεσα τη σύσταση του εντερικού μικροβιώματος, και η τροποποίηση αυτής, προς πιο ισορροπημένα πρότυπα μέσω διατροφικών παρεμβάσεων, αποτελεί πεδίο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος, για την πρόληψη πληθώρας ασθενειών. (HUMAN MICROBIOME PROJECT 2012, 486:207–214). Οι μικροβιακοί πληθυσμοί που αποικούν τον άνθρωπο συνολικά, ορίζονται ως το ‘‘ανθρώπινο μικροβίωμα’’. Το σύνολο της μικροβιακής κοινότητας που κατοικεί στο έντερο ονομάζεται ‘‘εντερικό μικροβίωμα’’ και πρόκειται για ένα σύνθετο οικοσύστημα, το οποίο αποτελείται από βακτήρια, μύκητες, ζύμες, αρχαία και ιούς. Τα βακτήρια που συναντώνται σε αφθονία είναι τα Firmicutes και τα Bacteroidetes και είναι τα δύο κυρίαρχα φύλα εντός του εντερικού μικροβιώματος. (Μεντής, Γύπας & Μεντής, 2013). Τα φύλα αυτά του εντερικού μικροβιώματος, αλληλεπιδρούν άμεσα με τον ξενιστή, προστατεύοντάς τον από λοιμώξεις καθώς επίσης, παρέχοντάς του και βασικές λειτουργίες βοηθώντας τον στο μεταβολισμό των τροφών. (HUMAN MICROBIOME PROJECT 2012, 486:207–214).

Η τροφική αλλεργία και δυσανεξία είναι από τις πιο κοινές διαταραχές, οι οποίες εμφανίζονται μάλιστα, από την παιδική κιόλας ηλικία. Το γεγονός αυτό στις μέρες μας, έχει θεωρηθεί ως παγκόσμιο πρόβλημα υγείας, ιδιαίτερα στον βιομηχανικό κόσμο. (Boyce JA, Assa'ad A, et al. 2010). Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δύο δεκαετιών, μελέτες έχουν δείξει ότι η επιδημιολογία των τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών έχει δραματική αύξηση στον επιπολασμό, τη σοβαρότητα των κλινικών εκδηλώσεων και τον κίνδυνο επιμονής αυτών, ακόμη και σε μεγαλύτερες ηλικίες. (Loh W, Tang MLK. 2018). Σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα επιδημιολογικά δεδομένα, οι αναλύσεις έδειξαν έως και επτά φορές αύξηση των εισαγωγών στο νοσοκομείο από τροφικές αλλεργικές αντιδράσεις, σε παιδιά στο Ηνωμένο Βασίλειο, ΗΠΑ, Ιταλία και Αυστραλία, τα τελευταία 10 χρόνια. (Berni Canani R, Nocerino R, et al. 2012). Περισσότερα από 170 τρόφιμα έχουν αναγνωριστεί ως ενεργοποιητές των τροφικών αλλεργιών, κάποια από αυτά είναι οι ξηροί καρποί, τα αυγά, τα φιστίκια, τα ψάρια, τα οστρακοειδή, το γάλα, το σιτάρι, η σόγια και οι σπόροι, με εθνικές και γεωγραφικές παραλλαγές ανάλογα με τις πιο κοινές τροφικές αλλεργίες. (Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, et al. 2010)

Ολοένα και περισσότερα στοιχεία, δείχνουν ότι ο αυξανόμενος επιπολασμός των τροφικών αλλεργιών συσχετίζεται άμεσα με τις συνθέσεις και τις λειτουργικές αλλαγές οι οποίες συμβαίνουν στο μικροβίωμα του εντέρου μας. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές μεταξύ μικροβίων και ξενιστών, διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ανάπτυξη ενός υγιούς εντερικού μικροβιώματος, συνάμα με αυτή του ανοσοποιητικού συστήματος, λαμβάνει χώρα από νωρίς στη ζωή του ανθρώπου και διαμορφώνεται σε μεγάλο ποσοστό από την έκθεση αυτού, σε διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες. (Leung ASY, Wong GWK, Tang MLK. 2018). Κάποιοι από τους περιβαλλοντικούς αυτούς παράγοντες, περιλαμβάνουν τις διάφορες δίαιτες, το φυσιολογικό τοκετό ή την καισαρική τομή, την έλλειψη θηλασμού, ακόμη και τα φάρμακα. (Leung ASY, Wong GWK, Tang MLK. 2018). Σε αυτό το σημείο αξίζει να τονιστεί το γεγονός ότι, τα φάρμακα έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να προκαλέσουν δυσβίωση στο εντερικό μικροβίωμα και έχουν συσχετιστεί με τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες. (Boyce JA, Assa'ad A, et al. 2010). Επιπρόσθετα, η χρήση αντιβιοτικών έχει αποδειχθεί ότι μπορεί ακόμη να διαταράξει την ομοιόσταση του εντέρου, καθώς και να αυξήσει σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης αλλεργικών ασθενειών, από την πρώιμη κιόλας παιδική ηλικία. Έτσι, αποδεικνύεται το γεγονός ότι οι αλλαγές στην ποσότητα ή την ποικιλομορφία του μικροβιώματος του εντέρου, επηρεάζουν άμεσα και ποικιλοτρόπως την ανοχή του ξενιστή στις διάφορες τροφικές και μη αλλεργίες, καθώς και στις δυσανεξίες. (Leung ASY, Wong GWK, Tang MLK. 2018).

Λέξεις κλειδιά: διατροφή, εντερικό μικροβίωμα, τροφικές αλλεργίες, δυσανεξίες.

Abstract:

The gut microbiome is a complex, dynamic microbial ecosystem, with a crucial role for the health of the individual host. Nutrition directly affects the composition of the intestinal

microbiome, and modifying it to more balanced standards through dietary interventions is a field of intense research interest in the prevention of a variety of diseases. (HUMAN MICROBIOME PROJECT 2012, 486: 207–214). The microbial populations that colonize humans as a whole are defined as the "human microbiome." The entire microbial community living in the gut is called the "intestinal microbiome" and is a complex ecosystem made up of bacteria, fungi, yeasts, ancient and viruses. The bacteria found in abundance are Firmicutes and Bacteroidetes and are the two dominant sexes within the intestinal microbiome. (Mentis, Gypas & Mentis, 2013). These sexes of the intestinal microbiome interact directly with the host, protecting it from infections as well as providing it with basic functions by helping it to metabolize food. (HUMAN MICROBIOME PROJECT 2012, 486: 207–214).

Food allergy and intolerance are among the most common disorders, which appear in childhood. This is now considered a global health problem, especially in the industrial world. (Boyce JA, Assa'ad A, et al. 2010). Over the past two decades, studies have shown that the epidemiology of food allergies and intolerances has a dramatic increase in prevalence, the severity of clinical manifestations and the risk of persistence, even in older people. (Loh W, Tang MLK. 2018). According to the latest epidemiological data, the analyzes showed up to seven times the increase in hospital admissions from food allergic reactions in children in the United Kingdom, USA, Italy and Australia in the last 10 years. (Berni Canani R, Nocerino R, et al. 2012). More than 170 foods have been identified as triggers for food allergies, some of which are nuts, eggs, peanuts, fish, shellfish, milk, wheat, soy and seeds, with national and geographical variations depending on with the most common food allergies. (Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, et al. 2010).

More and more evidence suggests that the increasing prevalence of food allergies is directly related to the compositions and functional changes that occur in the gut microbiome. These interactions between germs and hosts play a key role in regulating the immune system. The development of a healthy intestinal microbiome, along with that of the immune system, takes place early in human life and is largely shaped by its exposure to various environmental factors. (Leung ASY, Wong GWK, Tang MLK. 2018). Some of these environmental factors include various diets, normal childbirth or cesarean section, lack of breastfeeding, and even medication. (Leung ASY, Wong GWK, Tang MLK. 2018). At this point it is worth noting that the drugs have been shown to cause intestinal microbiome and have been linked to food allergies and intolerances. (Boyce JA, Assa'ad

A, et al. 2010). In addition, the use of antibiotics has been shown to further disrupt intestinal homeostasis, as well as significantly increase the risk of developing allergic diseases from an early age. Thus, it is proven that changes in the amount or diversity of the gut microbiome directly and in various ways affect the host's tolerance to various food and non-food allergies, as well as intolerances. (Leung ASY, Wong GWK, Tang MLK. 2018).

Key words: diet, gut microbiome, food allergies, intolerances.

Ευρετήριο ορολογιών:

Μικροχλωρίδα: Η κοινότητα μικροβίων σε ένα συγκεκριμένο οικοσύστημα.

Μικρόβια: Το άθροισμα των μικροοργανισμών, σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον.

Λειτουργική ταξινομική μονάδα: Ένα σύμπλεγμα μικροοργανισμών, ομαδοποιημένο με ομοιότητα αλληλουχίας DNA ενός συγκεκριμένου γονιδίου ταξονομικού δείκτη. Οι επιχειρησιακές ταξινομικές μονάδες ορίζονται με βάση το όριο ομοιότητας (συνήθως 97% ομοιότητα) που έχει ορίσει ο ερευνητής.

Ποικιλία μικροβίων: Ένα μέτρο για το πόσα διαφορετικά είδη κατανέμονται στην κοινότητα.

Συμβίωση: Υγιής ισορροπία σε ένα μικροβιακό οικοσύστημα.

Δυσβίωση: Μια κατάσταση ανισορροπίας σε ένα μικροβιακό οικοσύστημα.

Μεταγονιδιωματική: Η μελέτη του μεταγονιδιώματος, όπου το μεταγονιδίωμα είναι η συλλογική συγκέντρωση γονιδιωμάτων από ένα περιβάλλον (για παράδειγμα, το έντερο).

Μεταβολική: Η μελέτη του μεταβολισμού, ο μεταβολισμός είναι η συλλογική σειρά μεταβολιτών που υπάρχουν σε ένα βιολογικό δείγμα. (Roberto Berni Canani, Lorella Paparo, 2019).

Εισαγωγή

Το ανθρώπινο μικροβίωμα είναι ένα πολύπλοκο οικοσύστημα, το οποίο εκτιμάται ότι αποτελείται από περίπου 10^{14} βακτηριακά κύτταρα, τα οποία είναι 10 φορές περισσότερα από το συνολικό αριθμό των κυττάρων του ανθρώπινου σώματος. Έχουν αποδοθεί πολλαπλές λειτουργίες στο ανθρώπινο μικροβίωμα, οι σημαντικότερες εκ των οποίων είναι, η σύνθεση βιταμινών (π.χ. βιταμίνη Κ και Β12, φυλλικό οξύ), ο μεταβολισμός των χολικών αλάτων, ο καταβολισμός των φυτικών ινών, της βλέννης και των λιπαρών οξέων, επιπροσθέτως η ρύθμιση των φλεγμονωδών αντιδράσεων, καθώς και η ομοιοστάση του ανοσοποιητικού συστήματος. Το μικροβίωμα που υπάρχει στις μικροχλωρίδες του ανθρώπου αποικίζει σχεδόν κάθε επιφάνεια του ανθρώπινου σώματος η οποία εκτίθεται στο εξωτερικό περιβάλλον, όπως είναι το δέρμα, η ουρογεννητική οδός, οι αναπνευστικοί ιστοί και η γαστρεντερική οδός. (SEKIROV I, RUSSELL SL et al. 2010). Οι μικροβιακοί πληθυσμοί που αποικίζουν τον άνθρωπο έχουν ονομαστεί, συλλογικά, «ανθρώπινο μικροβίωμα» ή «ανθρώπινη μικροχλωρίδα». Έτσι, το ανθρώπινο μικροβίωμα έχει χαρακτηριστεί ως «υπερ-οργανισμός» ή «ξεχασμένο όργανο» ή ακόμη «το εκτεταμένο γονιδιώμα μας».(DUMAS Me. Cell Metab. 2011).

Το εντερικό μικροβίωμα την τελευταία ειδικά δεκαετία έχει κινήσει ιδιαίτερα το ενδιαφέρον των επιστημόνων και η έρευνα η σχετική με αυτό είναι συνεχής και από πληθώρα επιστημονικών ομάδων σε ολόκληρο τον κόσμο.(Maskarinec G., Hullar M. (2020), Russell. J.T et al. (2019), Visconti A. et al. (2019), Oriachad C.S. et al. (2016), Devaraj S.et all. (2013).

Ωστόσο νύξεις που σχετίζονται με το εντερικό μικροβίωμα έχουν υπάρξει ακόμα από τις αρχές του προηγούμενου αιώνα, όπως η συσχέτιση μεταξύ του μικροβιώματος του εντέρου και της υγείας που 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 (SEKIROV I, RUSSELL SL et al. 2010). Επίσης ο Ιπποκράτης είχε τονίσει ότι «η κακή πέψη είναι η ρίζα όλων των δεινών».

Είναι πλέον γνωστό, ότι τα εντερικά βακτηρίδια αλληλεπιδρούν και μεταξύ τους, αλλά και με τον ξενιστή και με αυτόν τον τρόπο εξηγείται γιατί η διατροφή διαδραματίζει άμεσο και σημαντικό ρόλο στην τροποποίηση της εντερικής μικροχλωρίδας, στον άνθρωπο (Tan & O' Toole, 2015). Ο ξενιστής, προσφέρει τον τόπο ανάπτυξης και διατροφής στα

συμβιωτικά εντερικά βακτήρια, τα οποία με τη σειρά τους, ευνοούν τον ξενιστή με το να προωθούν την αντίσταση στις λοιμώξεις και στις αλλεργίες, καθώς επίσης και να διευκολύνουν την απορρόφηση των τροφών που έχουν υποστεί πέψη. (Alou, Lagier & Raoult, 2016).

Η αλλεργία και η δυσανεξία ως κλινικά προβλήματα, περιλαμβάνουν άμεσα συμπτώματα τα οποία επηρεάζουν το δέρμα, το αναπνευστικό, το γαστρεντερικό ή ακόμη και το καρδιαγγειακό σύστημα (Boyce JA, Assa'ad A. et al. 2010). Καθώς λοιπόν οι μόνιμες μικροβιακές κοινότητες ξεπερνούν κατά πολύ τα ανθρώπινα κύτταρα και γονίδια, ενθαρρύνεται η ανάγκη προς μελέτη του τρόπου με τον οποίο συσχετίζονται με τις διάφορες αλλεργικές διαταραχές. (Bunyavanich S, Schadt EE. 2015). Η αύξηση των ποσοστών της τροφικής αλλεργίας, αντιπροσωπεύει μια ιδιαίτερα επείγουσα ανησυχία για την υγειονομική περίθαλψη, καθώς οι τροφικές αλλεργίες συχνά μπορεί να είναι απειλητικές για τη ζωή (Prescott S, Allen KJ. 2011). Γι αυτό το λόγο πολλές μελέτες, έχουν υπογραμμίσει τη σημασία των κοινών και συμβιωτικών βακτηριδίων που κατοικούν στο γαστρεντερικό σωλήνα, γνωστό ως 'εντερικό μικροβίωμα', στην ανθρώπινη υγεία (Holgate ST. 1999). Πιο συγκεκριμένα, αρκετές μελέτες έχουν ασχοληθεί ειδικά με τη 'δυσβίωση' του εντερικού μικροβιώματος, η οποία αποτελεί έναν παράγοντα μεγάλου ενδιαφέροντος, ο οποίος έχει άμεση συσχέτιση με διάφορες παθολογικές καταστάσεις που προκύπτουν στον άνθρωπο, κάποιες από τις οποίες είναι η εμφάνιση των αλλεργιών και των δυσανεξιών (Holgate ST. 1999). Τα διάφορα βακτήρια, οι ιοί και οι μύκητες αλληλεπιδρούν με το ανθρώπινο γονιδίωμα με πολύπλοκους τρόπους, αυτό έχει ως αποτέλεσμα το να μπορούν να έχουν άμεση επιρροή στις διάφορες τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες. (Knight R, Callewaert C, et al. 2017), Gilbert JA, Quinn RA, et al. (2016)). Τα ευρήματα μάλιστα, ότι τα μικροβιώματα του εντέρου μπορούν να ρυθμίσουν την ευαισθησία στις τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες, υποδηλώνουν την πιθανή θεραπευτική χρησιμότητά τους προς όφελος του ξενιστή (CLAESSON, JEFFERY ET AL. (2012). Αυτός είναι ένας τομέας μεγάλου ενδιαφέροντος, λαμβάνοντας υπόψη τα πιθανά οφέλη και τις πιθανές ευκαιρίες για τη διαμόρφωση και την ανάπτυξη πολλών θεραπευτικών μεθόδων, προς αντιμετώπιση των διάφορων τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών. (CLAESSON, JEFFERY ET AL. 2012).

Η έλευση των τεχνολογιών μελέτης της αλληλουχίας του DNA, έχει φέρει επανάσταση στην ικανότητα προσδιορισμού της μικροβιακής ποικιλομορφίας, καθώς και της σύγκρισης αυτής της ποικιλίας, μεταξύ οργάνων και ατόμων. Πιο συγκεκριμένα, η

αλληλουχία των διαγνωστικών περιοχών της 16S rRNA αλληλουχίας του γονιδίου, παρέχει πλέον μια ισχυρή μέθοδο για την ταυτοποίηση των βακτηρίων που υπάρχουν σε ένα δείγμα. Επειδή τα κλινικά δείγματα μπορούν να προσδιοριστούν άμεσα, οι οργανισμοί αναγνωρίζονται ακόμη και σε περιπτώσεις όπου δε μπορούν να καλλιεργηθούν. Η προκύπτουσα, 16S rRNA αλληλουχία παρέχει σημαντικές πληροφορίες για τα διάφορα βακτηριακά φύλα και θέτει τη βάση για την εργαστηριακή μελέτη αυτών (Morgan XC, Huttenhower C. 2012), (Ivanov II, Atarashi K, Manel N, et al. 2009).

Εν κατακλείδι, αναγνωρίζεται το γεγονός ότι η μελέτη και η γνώση για το ρόλο του εντερικού μικροβιώματος στον άνθρωπο, είναι ένας πολύτιμος αναδυόμενος τομέας μελέτης, ο οποίος έχει άφθονες δυνατότητες ανάπτυξης νέων κατευθύνσεων και στρατηγικών, προς αντιμετώπιση πλήθους ασθενειών (Huang YJ, Marsland BJ et al. 2017).

Κεφάλαιο 1: Γνωρίζοντας τον εντερικό μικροβιόκοσμο.

1.1 Εντερικό μικροβίωμα και λειτουργίες του.

Ως γαστρεντερικός μικροβιόκοσμος ορίζεται το σύνολο των μικροοργανισμών που αποικίζουν το γαστρεντερικό αυλό των ζώντων οργανισμών. Είναι γεγονός ότι συμβιώνουμε με ένα πλήθος μικροοργανισμών σε όλο το μήκος του ανθρώπινου σώματος. Κοιλότητες του σώματός μας αποικίζονται από μικροοργανισμούς με τα κύτταρα αυτών να είναι δέκα φορές περισσότερα από αυτά των δικών μας σωματικών και γεννητικών κυττάρων (Turnbaugh, Ley et al. 2007). Πρόκειται για ένα μικροβιακό οικοσύστημα εξαιρετικά πυκνό, σημαντικής ποικιλομορφίας, ανερχόμενο στα εκατό τρισεκατομμύρια μεταβολικά ενεργά κύτταρα, συλλογικά γνωστός ως “εντερικός μικροβιόκοσμος” ή “εντερικό μικροβίωμα” (Candela, Biagi et al. 2015). Ορίζοντας ως μικροβίωμα το συνολικό γονιδίωμα των μικροοργανισμών με τους οποίους συνυπάρχουμε εντός, αλλά και στην επιφάνεια του ανθρώπινου οργανισμού και συνυπολογίζοντας αυτό στο ανθρώπινο γονιδίωμα, καταλήγουμε στο συνολικό γονιδίωμα του ανθρώπινου οργανισμού. (Tremaroli and Backhed 2012). Το συνολικό αυτό γονιδίωμα συμπεριλαμβανομένου του μικροβιώματος, μπορεί να κωδικοποιεί πρωτεΐνες για χαρακτηριστικά γνωρίσματα και

μεταβολικές ανάγκες, εξελικτικά πολύ σημαντικές, τις οποίες δύσκολα θα ολοκληρώναμε απουσία του μικροβιώματός μας (Verbeke, Boobis et al. 2015).

Το DNA του Homo sapiens εκτιμάται ότι αποτελεί μόνο το 10% του DNA του ανθρώπινου οργανισμού συνολικά. Το υπόλοιπο 90% ανήκει στους μικροοργανισμούς που φιλοξενεί τόσο στην επιφάνεια του σώματός του όσο και στο εσωτερικό του. (Human Microbiome Project Consortium, <http://hmpdacc.org/>). Κάποιες από τις λειτουργίες του εν λόγω εντερικού μικροβιώματος, παρατίθενται παρακάτω (Gut Microbiota for Health, 2017).

- Βοηθάει τον οργανισμό στην πέψη των τροφών και στον καταβολισμό των φυτικών ινών και των λιπαρών οξέων .
- Βοηθάει στην παραγωγή ορισμένων βιταμινών, όπως είναι η βιταμίνη B12 και η βιταμίνη K.
- Βοηθάει στην καταπολέμηση επιθέσεων άλλων μικροοργανισμών, διατηρώντας έτσι την υγεία και τη λειτουργικότητα του εντερικού βλεννογόνου.
- Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ομαλή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, δρώντας ως προστατευτικός φραγμός, συμβάλλοντας δηλαδή, στην ομοίωση του οργανισμού.

Επιπροσθέτως, συμβάλει στη ρύθμιση των φλεγμονωδών αντιδράσεων.

Εν κατακλείδι, αναγνωρίζεται το γεγονός ότι ένα υγιές και ισορροπημένο εντερικό μικροβίωμα, είναι το κλειδί για την εξασφάλιση της υγείας, καθώς και μίας ισορροπημένης πεπτικής λειτουργίας. (Gut Microbiota for Health, 2017).

1.2 Τα διάφορα είδη των μικροοργανισμών που κατοικούν στο έντερο.

Η πλειοψηφία των μικροοργανισμών του εντερικού μικροβιόκοσμου είναι αναερόβιοι. Μέχρι το 2010 είχαν περιγραφεί πάνω από πενήντα διαφορετικά βακτηριακά φύλα, με δύο από αυτά να κυριαρχούν στο γαστρεντερικό μας αυλό, τα οποία είναι τα Bacteroidetes και τα Firmicutes. Μικροοργανισμοί των φύλων Proteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Fusobacteria, και Cyanobacteria αποικίζουν σε μικρότερες ποσότητες (Sekirov, Russell et al. 2010). Μικροοργανισμοί από τα τέσσερα κυρίαρχα φύλα των

Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria και Actinobacteria καλύπτουν το 98% του εντερικού μικροβιώματος (Yamashita, Kasahara et al. 2015). Το εντερικό μικροβίωμα του ανθρώπινου οργανισμού αυξάνεται προοδευτικά και κατά μήκος του γαστρεντερικού συστήματος. Αρχικά στο ύψος του στομάχου έως και το δωδεκαδάκτυλο παρατηρούνται έως 10^3 βακτηριακά κύτταρα ανά γραμμάριο κυττάρων του σώματος. Προχωρώντας στη νήστιδα και στον ειλέο, αυξάνονται στα 10^4 έως και 10^7 κύτταρα ανά γραμμάριο και καταλήγουν στο πυκνό περιεχόμενο του παχέος εντέρου με 10^{11} έως 10^{12} κύτταρα ανά γραμμάριο εντερικού περιεχομένου. Προοδευτικά του γαστρεντερικού αυλού δεν αλλάζει μόνο η ποσότητα του εντερικού μικροβιώματος συνολικά, αλλά και η αναλογία των μικροοργανισμών (Frank, St Amand et al. 2007). Σύμφωνα με την ομάδα ερευνητών των Frank, Amand και συνεργατών (Frank, St Amand et al. 2007), δείγματα από το ύψος του λεπτού εντέρου ήταν πλούσια σε Actinobacteria, καθώς και από την τάξη των "Bacilli", από το φύλο των Firmicutes. Αντίστοιχα, δείγματα από το ύψος του παχέος εντέρου ήταν πλούσια σε Bacteroidetes και την οικογένεια "Lachnospiraceae" από το φύλο των Firmicutes (Frank, St Amand et al. 2007). Τέλος, η αναλογία των μικροοργανισμών διαφοροποιείται και κατά πλάτος του γαστρεντερικού αυλού. Στον αυλό υπάρχουν κυρίως Bacteroides, Bifidobacteria, στρεπτόκοκκοι, εντερόκοκκοι, εντεροβακτήρια, κλωστηρίδια και Ruminococcus, ενώ στον βλεννογόνο επικρατούν τα κλωστηρίδια, οι γαλακτοβάκιλοι και οι εντερόκοκκοι. (Μεντής, Γύπας και Μεντής, 2013). Το περιεχόμενο εντός του γαστρεντερικού αυλού, το οποίο θα είναι τελικώς και το υλικό της κένωσης είναι πλούσιο σε Bacteroides, Bifidobacterium, Streptococcus, μέλη Enterobacteriaceae, Enterococcus, Clostridium, Lactobacillus, και Ruminococcus, από την άλλη, σύμφωνα με βιοψίες από την επιφάνεια του επιθηλίου αλλά και από τα ενδιάμεσα στρώματα στο υλικό, βρέθηκαν μόνο Clostridium, Lactobacillus και Enterococcus (Sekirov, Russell et al. 2010).

Ο κάθε οργανισμός φιλοξενεί το δικό του, μοναδικό μικροβιακό φορτίο, του οποίου η μεγαλύτερη ποσότητα βρίσκεται στο παχύ έντερο, που όπως προαναφέρεται, είναι μια από τις πιο αδρές και ανταγωνιστικές θέσεις. Η παρουσία ενός μικρού υποσυνόλου του βακτηριακού μικροβιόκοσμου στο παχύ έντερο, είναι το αποτέλεσμα της επιλεκτικής δράσης αυτών, κατά τη διάρκεια της εξέλιξης, όπου επιλέγονται οργανισμοί πολύ καλά προσαρμοσμένοι σε αυτό το περιβάλλον και την εντερική θέση, ώστε να είναι ανθεκτικοί στις συνθήκες του περιβάλλοντος αυτού. Έτσι, το κάθε άτομο φιλοξενεί μια μοναδική βακτηριακή κοινότητα στο έντερό του. Το ανθρώπινο έντερο φιλοξενεί μια μεγάλη κοινότητα ιών DNA και RNA που αποτελούνται από περίπου 2.000 διαφορετικούς

γονότυπους. Η πλειονότητα των ιών DNA είναι βακτηριοφάγοι, δηλαδή ιοί που μολύνουν βακτήρια (είναι η πιο άφθονη βιολογική οντότητα στη γη, με εκτιμώμενο πληθυσμό περίπου 10^{31} μονάδες), ενώ η πλειονότητα των ιών RNA είναι φυτικοί ιοί. (Tazzini, D. 2015).

Παρακάτω παρουσιάζονται τα φύλα καθώς και κάποια από τα πιο αντιπροσωπευτικά γένη τους (Tazzini, D. (2015).

- Actinobacteria (Gram-θετικά βακτήρια), με πιο αντιπροσωπευτικά γένη τα Bifidobacterium, Collinsella, Eggerthella και Propionibacterium.
- Bacteroidetes (Gram- αρνητικά βακτήρια), με πάνω από 20 γένη συμπεριλαμβανομένων των Bacteroides, Prevotella and Corynebacterium.
- Cyanobacteria (Gram- αρνητικά βακτήρια).
- Firmicutes (Gram-θετικά βακτήρια), με τουλάχιστον 250 γένη, συμπεριλαμβανομένων των Mycoplasma, Bacillus, Clostridium, Dorea, Faecalibacterium, Ruminococcus, Eubacterium, Staphylococcus, Streptococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Enterococcus, Sporobacter, και Roseburia.
- Fusobacteria (Gram- αρνητικά βακτήρια).
- Lentisphaerae (Gram- αρνητικά βακτήρια).
- Proteobacteria (Gram-αρνητικά βακτήρια), με πιο αντιπροσωπευτικά γένη τα Escherichia, Klebsiella, Shigella, Salmonella, Citrobacter, Helicobacter και Serratia.
- Spirochaetes (Gram- αρνητικά βακτήρια).
- Verrucomicrobia (Gram-αρνητικά βακτήρια). (Tazzini, D. 2015).

1.3 Η δημιουργία του εντερικού μικροβιώματος από την γέννηση του ατόμου και η σημασία του μητρικού γάλακτος στην ανάπτυξή του.

Ο ανθρώπινος γαστρεντερικός αυλός εποικίζεται από τη γέννηση κιόλας του εμβρύου. Διαφοροποιείται ανάλογα με τον τρόπο γέννησης, φυσιολογικός τοκετός ή καισαρική τομή. Στην πρώτη περίπτωση του φυσιολογικού τοκετού, ανιχνεύονται στο εντερικό περιεχόμενο του εμβρύου μικροοργανισμοί που εντοπίζονται και στον κόλπο της μητέρας. Αντίθετα, στη δεύτερη περίπτωση της καισαρικής τομής, ο γαστρεντερικός αυλός του

εμβρύου αποικίζεται από τους μικροοργανισμούς του περιβάλλοντα χώρου της κύησης, αλλά και από το νοσοκομειακό δωμάτιο. (Sekirov, Russell et al. 2010). Κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους της ζωής, ο εντερικός μικροβιόκοσμος πολλαπλασιάζεται, και διαφοροποιείται από άτομο σε άτομο. (Sekirov, Russell et al. 2010). Πιο αναλυτικά, η εντερική μικροχλωρίδα μεταβάλλεται κατά τα διάφορα στάδια της ζωής ενός ατόμου, όπως φαίνεται στην εικόνα 1, στην οποία περιγράφεται η ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας (εικόνα 1) . Η περίοδος κατά την οποία ο οργανισμός του ανθρώπου επηρεάζεται περισσότερο από το μικροβίωμα είναι η μετα-γεννητική περίοδος, κατά την οποία το άνευ μικροβίων νεογνό, μεταφέρεται από το στείρο περιβάλλον της μήτρας σε έναν κόσμο άφθονων μικροβίων, κατά την οποία περίοδο, η επιφάνεια του δέρματος και οι βλεννογόνοι του νεογνού σταδιακά αρχίζουν να αποικίζονται από μικροοργανισμούς. (VAUGHAN, SCHUT et al. 2000). Η άμεση επαφή των νεογνών με το μικροβίωμα του γεννητικού σωλήνα κατά τον φυσιολογικό τοκετό επηρεάζει την ανάπτυξη του εντερικού τους μικροβιώματος, όπως φαίνεται και από την ομοιότητα του μικροβιώματος 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 ο πιο καθοριστικός παράγοντας για τη διαμόρφωση του μικροβιώματος των ενηλίκων απ' ό,τι το γενετικό τους υπόβαθρο. (VAUGHAN, SCHUT et al. Curr Issues Intest Microbiol 2000).

Ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας (εικόνα 1).



Ανάπτυξη της εντερικής μικροχλωρίδας (εικόνα 1), (VAUGHAN, SCHUT et al. Curr Issues Intest Microbiol 2000).

Μετά τον πρώτο χρόνο της ζωής, το εντερικό μικροβίωμα των παιδιών αρχίζει να μοιάζει με εκείνο ενός νεαρού ενήλικα και τότε είναι η περίοδος κατά την οποία το μικροβίωμα ασκεί τη μεγαλύτερη δράση πάνω στο ανοσοποιητικό σύστημα του παιδιού. Η πλήρης σύνθεση των κυριότερων βακτηριακών πληθυσμών, πάντως, δεν σταθεροποιείται μέχρι, τουλάχιστον, τα δύομισι πρώτα χρόνια της ζωής. (MÄNDAR & MIKELSAAR 1996).

Η σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας στην τρίτη ηλικία (>65 ετών) είναι εξαιρετικά ποικίλη μεταξύ των ατόμων και διαφέρει από εκείνη των νεότερων. Παρά το γεγονός ότι, η επιδείνωση της λειτουργίας των δοντιών, καθώς και των σιελογόνων αδένων, της πέψης, καθώς 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. 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. (CLAESSON, JEFFERY et al. 2012).

Το μητρικό γάλα, όπως είναι φυσικό, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη διαμόρφωση της εντερικής χλωρίδας όσο και στην προστασία του νεογνού από τα διάφορα παθογόνα βακτηρίδια. Ο μαστικός αδένας αποικίζεται από ανοσολογικά κύτταρα του εντέρου, μέσω του ‘εντερομαστικού άξονα’ (“entero-mammary axis”), με αποτέλεσμα οι εκκρίσεις από το μαστό να περιέχουν IgA αντισώματα. (CABRERA-RUBIO, COLLADO et al. 2012). Είναι γνωστό επίσης, ότι το μητρικό γάλα περιέχει εκτός των αντισωμάτων και άλλους παράγοντες, όπως είναι η καζεΐνη η οποία διασπώμενη παράγει γλυκομακροπεπίδια, καθώς και η λακτοφερίνη, όπου προστατεύουν το μη πλήρως ανεπτυγμένο έντερο του θηλάζοντος παιδιού, από πολλούς λοιμώδεις παράγοντες. (CABRERA-RUBIO, COLLADO et al. 2012).

Σε μία 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 οι σταφυλόκοκκοι, οι στρεπτόκοκκοι και οι 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 και στη στοματική κοιλότητα, τα οποία προέρχονταν 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, επομένως, μπορεί να έχουν μεταβολικό ρόλο ή και να επιδρούν στην ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος. (CABRERA-RUBIO, COLLADO et al. 2012). Συνοψίζοντας, παρατηρούμε ότι η μελέτη της μικροχλωρίδας του μητρικού γάλακτος και της επίδρασής της στον οργανισμό του νεογνού μπορεί να οδηγήσει στη βελτίωση του τεχνητού γάλακτος υποκατάστασης, με την προσθήκη ωφέλιμων βακτηρίων. (CABRERA-RUBIO, COLLADO et al. Am J Clin Nutr 2012).

1.4 Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σύνθεση και την ανάπτυξη του εντερικού μικροβιώματος:

Στη συμβιωτική σχέση μεταξύ των μικροοργανισμών και του ξενιστή οργανισμού ποικίλοι είναι οι παράγοντες που δύνανται να παρέμβουν και να τροποποιήσουν την υπάρχουσα κατάσταση (Wu, Chen et al. 2011). Η υιοθέτηση μίας ισορροπημένης δίαιτας έχει φανεί ότι συμβάλει στη διατήρηση ενός υγιούς εντερικού μικροβιόκοσμου και μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης ποικίλων ασθενειών (Houghton, Stewart et al. 2016). Οι μικροβιακές κοινότητες, καθώς και η λειτουργία του εντέρου, είναι υπό διαμόρφωση στη βρεφική ηλικία, σταθεροποιούνται όμως, στην παιδική ηλικία. Οι μικροβιακές αυτές κοινότητες, έχουν μεγάλη επίδραση στην ανάπτυξη του πεπτικού αλλά και του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή. Κατά το πρώτο έτος της ζωής ειδικά, τα μικροβιώματα του εντέρου αλλάζουν δραματικά μέσω των αλληλεπιδράσεων που πραγματοποιούν με το αναπτυσσόμενο ανοσοποιητικό σύστημα του εντέρου. Όπως παρατηρήθηκε και από την ομάδα ερευνητών Turnbaugh, Hamady et al., οι γενετικοί και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, επηρεάζουν άμεσα το μικροβίωμα του ατόμου. Πιο συγκεκριμένα, αυτό παρατηρήθηκε από πείραμα, στο οποίο χρησιμοποίησαν αξενικά πειραματόζωα (αποστειρωμένα-δίχως μικροοργανισμούς) στα οποία μεταμόσχευσαν εντερικό μικροβίωμα από το εκάστοτε άτομο-ξενιστή και εκθέτοντάς τα στην ανάλογη συνθήκη, με τα αποτελέσματά τους να επιβαιβεώνουν τη συσχέτιση αυτή (περιβάλλον, γονότυπος και μικροβίωμα). (Turnbaugh, Hamady et al. 2009). Επομένως, όπως επιβεβαιώνεται και από τους J.K. Nicholson, E. Holmes, et al., η διαδικασία καθορισμού του μικροβιώματος επηρεάζεται σημαντικά από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες, οι οποίοι κρίνονται καθοριστικοί για το μέλλον της δια βίου υγείας του ατόμου ξενιστή (J.K. Nicholson, E. Holmes, et al. 2012), μερικοί εκ των οποίων, παρατίθενται αναλυτικά παρακάτω.

1.4.1 Η διατροφή του ατόμου-ξενιστή.

Οι διατροφικές συνήθειες του ατόμου ξενιστή, συνδέονται άμεσα με τη σύσταση του μικροβιώματος, διότι ευνοούνται οι μικροοργανισμοί που μπορούν να καταναλώσουν την παρεχόμενη τροφή. Υπάρχουν μικροοργανισμοί που μεταβολίζουν τους υδατάνθρακες, όπως είναι τα γένη *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Enterococcus*, *Peptostreptococcus*, και άλλοι που μεταβολίζουν τις πρωτεΐνες, όπως είναι

οι Streptococcus, Staphylococcus, Proteus, ενώ άλλοι, όπως Escherichia, Fusobacteria και Propionibacterium μεταβολίζουν και τους υδατάνθρακες αλλά και τις πρωτεΐνες, (Arumugam et al., 2011). Σε παχύσαρκους ενήλικες η μεγάλη κατανάλωση αμύλου συνδέεται με υψηλά επίπεδα των βακτηρίων Eubacterium και Ruminococcus (Walker et al., 2011). Ενώ, η κατανάλωση μη αμυλούχων υδατανθράκων συνδέεται με την παραγωγή λιπαρών οξέων βραχέας αλύσου, καθώς και με τα βακτήρια Roseburia και Eubacterium (Duncan et al., 2007). Επιπλέον, η διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά συνδέεται με μειωμένα επίπεδα Bifidobacterium και με μειωμένη παραγωγή λιπαρών οξέων βραχέας αλύσου, ενώ τα υψηλά επίπεδα χοληστερόλης αυξάνουν την αναλογία Firmicutes/Bacteroidetes (Brinkworth et al., 2009), (Lee et al., 2015).

Διάφορες μελέτες οι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε πειραματόζωα, ανέδειξαν την αξία της διατροφής στη σύσταση του εντερικού μικροβιόκοσμου, για τις οποίες έχει γίνει αναφορά στη μελέτη των Turnbaugh και των συνεργατών του (Turnbaugh, Hamady et al. 2009), και κατά την οποία πραγματοποιήθηκε παρέμβαση με δίαιτα πλούσια σε διαιτητικές ίνες και φτωχή σε λίπος και αλλαγή αυτής στη συνέχεια, με δίαιτα πλούσια σε σάκχαρα και πλούσια σε λίπος. Στη συγκεκριμένη μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση του πληθυσμού του φύλου Firmicutes στις τάξεις Bacilli και Erysipelotrichi και παράλληλη μείωση του φύλου Bacteroidetes, μετά την αλλαγή της διαίτας. (Turnbaugh, Hamady et al. 2009).

Συνεχίζοντας, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει το μητρικό γάλα, ως η πρώτη τροφή του νεογνού, το οποίο φιλοξενεί ένα πλούσιο μικροβίωμα που αποτελείται από περισσότερα από 700 είδη, τα οποία αποτελούνται κυρίως από σταφυλόκοκκους, στρεπτόκοκκους, bifidobacteria και βακτήρια γαλακτικού οξέος. Ως εκ τούτου, είναι μια σημαντική πηγή για τον αποικισμό του βρεφικού εντέρου που θηλάζει και έχει αποδειχθεί ότι αυτός ο τρόπος αποικισμού σχετίζεται στενά με την κατάσταση της υγείας του βρέφους, επειδή, μεταξύ των άλλων λειτουργιών, θα μπορούσε να το προστατεύσει από λοιμώξεις, καθώς και να συμβάλει στην ωρίμανση του ανοσοποιητικού του συστήματος (Tazzini, D. 2015). Το μητρικό γάλα, επηρεάζει επίσης έμμεσα τα εντερικά μικροβιοτικά, μέσω της παρουσίας των ολιγοσακχαριτών με πρεβιοτική δράση, οι οποίοι διεγείρουν την ανάπτυξη συγκεκριμένων βακτηριακών ομάδων συμπεριλαμβανομένων των σταφυλόκοκκων και των βιφιδοβακτηριδίων (Tazzini, D. 2015).

Μια πρόσφατη μελέτη συνέκρινε τα εντερικά μικροβιώματα παιδιών από την Ευρώπη και την Αφρική (από τη Φλωρεντία και από ένα αγροτικό χωριό στη Μπουρκίνα Φάσο,

αντίστοιχα) μεταξύ των ηλικιών 1 έως 6 ετών και επεσήμανε τον κυρίαρχο ρόλο της διατροφής σε διάφορες μεταβλητές όπως είναι το κλίμα, η γεωγραφική θέση, η υγιεινή και οι υπηρεσίες υγείας (παρατηρήθηκε επίσης η απουσία σημαντικών διαφορών στην έκφραση των βασικών γονιδίων που ρυθμίζουν την ανοσολογική λειτουργία, γεγονός που υποδηλώνει μια λειτουργική ομοιότητα μεταξύ των δύο ομάδων). (Tazzini, D. 2015), (Houghton, Stewart et al. 2016). Πράγματι, τα βρέφη, αρκεί να θηλάζουν, έχουν αρκετά παρόμοιο μικροβίωμα του εντέρου μεταξύ τους, πλούσιο σε Actinobacteria, και κυρίως σε Bifidobacterium. Η επακόλουθη εισαγωγή στερεών τροφών στις δύο ομάδες, μία δυτικού τύπου διατροφή πλούσια σε ζωικά λιπαρά και πρωτεΐνες στα παιδιά της Ευρώπης, και μία διατροφή χαμηλή σε ζωικές πρωτεΐνες αλλά πλούσια σε σύνθετους υδατάνθρακες, στα παιδιά της Αφρικής, οδηγεί σε διαφοροποίηση στην αναλογία Firmicutes /Bacteroidetes μεταξύ των δύο ομάδων. Τα Gram-θετικά βακτήρια, κυρίως τα Firmicutes, ήταν πιο άφθονα από τα Gram-αρνητικά βακτήρια στα παιδιά της Ευρώπης, ενώ τα Gram-αρνητικά βακτήρια, κυρίως τα Bacteroidetes, επικράτησαν έναντι των Gram-θετικών βακτηρίων στα παιδιά της Αφρικής (Houghton, Stewart et al. 2016). Επιπλέον, τα νεογνά χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη ποικιλότητα μικροοργανισμών σε σύγκριση με τους ενήλικες και ένας παράγοντας που ερμηνεύει την ποικιλότητα των μικροοργανισμών αυτών, είναι η διατροφή τους. Αυτό συμβαίνει σταδιακά, κατά τη μετάβαση από την υγρή τροφή των νεογνών στη στερεή τροφή των ενηλίκων, όπου περνούν από μία φάση δοκιμών. Έτσι, όσο μεγαλύτερη ποικιλία υπάρχει στη διαίτα του ατόμου, τόσο μεγαλύτερη είναι η ποικιλότητα του μικροβιώματός του. Αντίθετα, οι ενήλικες έχουν παγιωμένες διατροφικές συνήθειες που συνδέονται με τη μείωση της ποικιλότητας του μικροβιώματός τους (Voreades et al., 2014).

1.4.2 Οι διάφορες δίαιτες.

Οι διάφορες δίαιτες επίσης, έχει αποδειχθεί, ότι σχετίζονται στενά με τον διαχωρισμό του εντερικού μικροβιώματος στον κάθε ανθρώπινο οργανισμό ξεχωριστά. Δηλαδή, μια διαίτα με υψηλή περιεκτικότητα σε ζωικά λιπαρά και πρωτεΐνες, (δηλαδή μια διαίτα δυτικού τύπου), οδηγεί σε ένα μικροβιόκοσμο εντέρου, ο οποίος κυριαρχείται από τον μικροβιακό εντεροτύπο Bacteroides. Επίσης, μία διαίτα πλούσια σε σύνθετους υδατάνθρακες, τυπική των αγροτικών κοινωνιών, οδηγεί στην επικράτηση του εντεροτύπου Prevotella. (Tazzini, D. 2015). Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν από την προαναφερθείσα μελέτη για τα παιδιά. Στους Ευρωπαίους, τα μικροβιώματα του εντέρου που κυριαρχούσαν ήταν εκείνα

του εντερότυπου *Bacteroides*, ενώ στα παιδιά της Μπουρκίνα Φάσο κυριαρχεί ο εντερότυπος *Prevotella*. Με βραχυπρόθεσμες αλλαγές στη διατροφή (10 ημέρες), όπως είναι η μετάβαση από δίαιτα χαμηλών λιπαρών και υψηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες, σε δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά και χαμηλών ινών και αντιστρόφως, παρατηρήθηκαν αλλαγές στη σύνθεση του μικροβιώματος (εντός 24 ωρών). Και αυτό υπογραμμίζει ότι, απαιτείται μακροχρόνια δίαιτα για αλλαγή των εντεροτύπων του μικροβίου του εντέρου. Επιπλέον, σε άτομα με ίδια δίαιτα, οι αναλογίες των εντερικών μικροβιακών πληθυσμών, φαίνεται να συγκλίνουν. (Tazzini, D. 2015). Ειδικές κατηγορίες δίαιτας, όπως είναι η χορτοφαγική συνδέεται με την υψηλή αναλογία *Bacteroides/Prevotella* (Matijasic et al., 2014). Επίσης, μία δίαιτα με αυξημένη κατανάλωση οίνου αυξάνει τα επίπεδα των *Enterococcus*, *Prevotella*, *Bacteroides* και *Bifidobacterium* (Queiro-Ortuno et al., 2012). Η υιοθέτηση μίας ισορροπημένης δίαιτας έχει φανεί ότι συμβάλει στη διατήρηση ενός «υγιούς» εντερικού μικροβιοκόσμου και μειώνει τον κίνδυνο ποικίλων ασθενειών (Houghton, Stewart et al. 2016).

1.4.3 PH, χολικά άλατα και πεπτικά ένζυμα.

Το στομάχι, λόγω του χαμηλού PH του, είναι ένα εχθρικό περιβάλλον για τα ανθρώπινα μικροβιώματα. Γεγονός το οποίο δημιουργεί ένα δυσμενές περιβάλλον προς αυτά. (Baron SF, Franklund CV & Hylemon PB. 1991). Η μειωμένη δράση του προστατευτικού ρόλου του μικροβιώματος, λόγω του χαμηλού PH του στομάχου, είναι ικανή να δημιουργήσει διάφορες μη επιθυμητές αντιδράσεις προς το άτομο ξενιστή, όπως είναι η γαστρίτιδα και τα γαστρικά έλκη. Το όξινο αυτό περιβάλλον, προκαλεί μεταβολές στον πληθυσμό καθώς και τη λειτουργία του μικροβιώματος. (Baron SF, Franklund CV & Hylemon PB. 1991).

Στην περιοχή του δωδεκαδακτύλου, εμφανίζεται αύξηση του αριθμού των βακτηριακών κυττάρων, με 10^4 - 10^5 βακτηριακά κύτταρα ανά γραμμάριο ιστού, και παρόμοιες βακτηριακές συγκεντρώσεις υπάρχουν στη νήστιδα και στον εγγύς ειλεό. Ο μικρός αριθμός μικροοργανισμών που υπάρχουν στο λεπτό έντερο οφείλεται στο αφιλόξενο περιβάλλον, συνεπεία του γεγονότος ότι υπάρχει το άνοιγμα του φύματος του Vater στο κατηφορικό τμήμα του δωδεκαδάκτυλου, το οποίο ρίχνει χολή του παγκρέατος στο δωδεκαδάκτυλο, πεπτικά ένζυμα και χολικά άλατα, τα οποία βλάπτουν τους μικροοργανισμούς. (Baron SF, Franklund CV & Hylemon PB. 1991). Γι αυτό το λόγο, η κατανομή των βακτηρίων κατά μήκος του εντέρου είναι στρατηγική. Δηλαδή, στο

δωδεκαδάκτυλο και στη νήστιδα, η ποσότητα των διαθέσιμων θρεπτικών ουσιών είναι πολύ μεγαλύτερη από εκείνη που βρίσκεται στο τελικό τμήμα του ειλεού, όπου εκεί παραμένουν μόνο νερό, ίνες και ηλεκτρολύτες. Επομένως, η παρουσία μεγάλου αριθμού βακτηρίων στο τελικό τμήμα του ειλεού, και ακόμη περισσότερο στο παχύ έντερο, δεν αποτελεί πρόβλημα. Το πρόβλημα θα ήταν να βρεθεί μια υψηλή συγκέντρωση βακτηρίων στο δωδεκαδάκτυλο, τη νήστιδα και τα κοντινά μέρη του ειλεού, καθώς υπάρχει πιθανότητα εμφάνισης μιας ασθένειας, που ονομάζεται ‘βακτηριακή υπερανάπτυξη του λεπτού εντέρου’ ή ‘SIBO’, στην οποία ο αριθμός των βακτηρίων στο λεπτό έντερο αυξάνεται κατά περίπου 10 με 15 φορές. (Baron SF, Franklund CV & Hylemon PB. 1991). Το γεγονός αυτό, τους θέτει σε θέση να ανταγωνίζονται τον ξενιστή για θρεπτικά συστατικά και να προκαλούν γαστρεντερικές διαταραχές όπως είναι η διάρροια. Στο τελικό τμήμα του ειλεού, όπου οι δραστηριότητες των παγκρεατικών ενζύμων και των χολικών αλάτων είναι χαμηλότερες, υπάρχουν περίπου 10^7 βακτηριακά κύτταρα ανά γραμμάριο ιστού και έως και 10^{12} - 10^{14} βακτηριακά κύτταρα ανά γραμμάριο ιστού στο κόλον, έτσι τελικώς, τα βακτήρια αντιπροσωπεύουν ένα μεγάλο ποσοστό περί το 40%, της μάζας των κοπράνων. (Baron SF, Franklund CV & Hylemon PB. 1991).

Τα χολικά άλατα πιο συγκεκριμένα, μπορούν να ασκήσουν άμεσες επιδράσεις, τόσο θετικές όσο και αρνητικές, στα βακτήρια του εντέρου (Begley et al. 2005). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα χολικά άλατα έχουν συνολική αρνητική επίδραση στην ακεραιότητα της μεμβράνης, πιθανώς λόγω της αύξησης της διαπερατότητας της μεμβράνης που οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο (Albalak et al. 1996), (De Boever et al. 2000). Κάποιες από τις αρνητικές τους επιδράσεις είναι το γεγονός ότι, τα χολικά άλατα καταστρέφουν το DNA και δυσχαιρένουν τη δράση των ενζύμων που εμπλέκονται στην επιδιόρθωση του DNA (Kandell και Bernstein 1991), (Begley et al. 2005). Επιπλέον, υπάρχουν περαιτέρω ενδείξεις ότι τα χολικά άλατα μπορεί επίσης να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες καθώς και διαταραχές στο PH, οι οποίες διαταραχές αυτές, είναι ικανές να δημιουργήσουν σημαντικά εχθρικό περιβάλλον για τους μικροοργανισμούς του εντερικού μικροβιώματος (Bernstein et al. 1999), (Begley et al. 2005). Παρ όλα αυτά, τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια θεωρούνται επί του παρόντος πιο ανθεκτικά στα χολικά άλατα, από τους θετικούς κατά Gram μικροοργανισμούς, αν και λίγες μελέτες έχουν μελετήσει την αντίσταση στα χολικά άλατα μεταξύ των Gram-αρνητικών ειδών (Begley et al. 2005). Στις θετικές επιδράσεις των χολικών αλάτων συγκαταλέγεται το γεγονός ότι τα πρωτογενή χολικά άλατα, όπως είναι η ταυροχολική ένωση, μπορούν να παρέχουν σήματα

καταστολής στα βακτήρια του εντέρου και να προωθήσουν τη βλάστηση των σπόρων, τα οποία μπορεί να υπάρχουν σε αδρανείς και μη τοξικές μορφές και μπορεί να διευκολύνουν την ανάκτηση των μικροβίων, μετά από δυσβίωση που μπορεί να έχει προκληθεί από διάφορα αντιβιοτικά ή από τοξίνες. (Kakiyama et al. 2013). Τα πρωτογενή χολικά άλατα μπορούν επίσης να χρησιμεύσουν ως “μηχανισμός ελέγχου” για την πρόληψη της ανάπτυξης παθογόνων Gram-αρνητικών βακτηρίων στο λεπτό έντερο (Kakiyama et al. 2013).

1.4.4 Η γεωγραφική θέση.

Η σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος διαφέρει μεταξύ φυσιολογικών ατόμων που κατοικούν σε αναπτυσσόμενες ή αναπτυγμένες χώρες. Ο τοκετός των παιδιών στις αναπτυγμένες 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. (ADLERBERTH, WOLD Establishment of the gut microbiota in Western infants 2009). Για παράδειγμα, ένα είδος γεωγραφικής διαφοροποίησης εμφανίζεται στα μικροβιώματα των ευρωπαϊών βρεφών, με μεγαλύτερο αριθμό ειδών *Bifidobacterium* και ορισμένων *Clostridium* στα βόρεια βρέφη, ενώ, τα νότια βρέφη έχουν υψηλότερα επίπεδα *Bacteroides*, *Lactobacillus* και *Eubacterium*. Στους ενηλίκους, το μικροβίωμα στους ευρωπαϊκούς πληθυσμούς αποτελείται κατά κύριο λόγο από τον εντερότυπο των *Bacteroides*, ενώ το μικροβίωμα στους πληθυσμούς της Αφρικής από εκείνο του *Prevotella*. Οι διαιτητικές ανομοιότητες ανά περιοχή, είναι η πλέον πιθανή εξήγηση. (DE FILIPPO, CAVALIERI et al. Proc Natl Acad Sci USA 2010).

1.4.5 Η κατάσταση της υγείας του βρέφους και της μητέρας.

Έχει αποδειχθεί ότι η κατάσταση υγείας της εγκύου επηρεάζει άμεσα τη μετέπειτα διαμόρφωση του εντερικού μικροβιώματος του νεογνού, σύμφωνα και με πρόσφατες έρευνες, βάση των οποίων, βακτήρια εντοπίζονται τόσο στο αμνιακό υγρό, όσο και στον πλακούντα (DiGiulio, 2012). Για παράδειγμα, σε μητέρες με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, το *Faecalibacterium prausnitzii*, ένα βακτήριο που παράγει βουτυρικό οξύ (μια σημαντική πηγή ενέργειας για τα εντερικά κύτταρα) και με αντιφλεγμονώδη

δραστηριότητα, εξαντλείται, ενώ υπάρχει αύξηση του αριθμού των προσκολλημένων *Escherichia coli* βακτηριδίων. Επομένως, γνωρίζοντας ότι το μικροβίωμα της μητέρας περνά με τη γέννα και στο νεογνό, φαίνεται ότι η κατάσταση της υγείας είναι ένας τομέας όπου επηρεάζει άμεσα τη διαμόρφωση του μικροβιώματος του εντέρου. (DE FILIPPO, CAVALIERI et al. Proc Natl Acad Sci USA 2010). Είναι πλέον γνωστό, ότι η διατροφή της μητέρας έχει καθοριστικό ρόλο και επηρεάζει άμεσα τη σύσταση του μικροβιώματος του εμβρύου. Συγκεκριμένα, αν η μητέρα για λόγους υγείας, ακολουθεί μία δίαιτα χωρίς γλουτένη, ευνοείται η ανάπτυξη συγκεκριμένων μικροβιακών ειδών όπως είναι τα *Akkermansia* και τα *Proteobacteria* (Hansen et al., 2014). Η σύσταση του νεογνικού μικροβιώματος εξαρτάται επίσης από τη διατροφή του. Τα νεογνά που τρέφονται με μητρικό γάλα φαίνεται να είναι πιο υγιή, ενώ έχουν σημαντικό ποσοστό βακτηρίων *Bifidobacterium*, του φύλου *Actinobacteria*, ενώ εκείνα που τρέφονται αποκλειστικά με γάλα εμπορίου έχουν σε σημαντικό ποσοστό *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis* και φύλα του γένους *Lactobacillus* (Penders et al, 2006).

1.4.6 Οι θεραπείες με αντιβιοτικά και οι βακτηριακές λοιμώξεις.

Η χορήγηση εξωγενών ουσιών, όπως τα φάρμακα και τα αντιβιοτικά, επηρεάζουν τη σύσταση και την ποσότητα των μικροβιακών πληθυσμών στον άνθρωπο. Τα αντιβιοτικά αποτελούν για πολλές δεκαετίες τον ακρογωνιαίο λίθο της θεραπευτικής για την αντιμετώπιση πληθώρας λοιμώξεων, διότι έχουν βακτηριοστατική ή βακτηριοκτόνο δράση. Η χρήση αντιβιοτικών διαταράσσει σε υπερβολικό βαθμό τη σύσταση, την ποικιλία και τον αριθμό των μικροοργανισμών στο έντερο. Αυτός είναι και ο λόγος που μια συχνή παρενέργεια της χρήσης αντιβιοτικών είναι η διάρροια. Οι κυριότεροι τρόποι δράσης των αντιβιοτικών περιλαμβάνουν την αναστολή των βασικών κυτταρικών λειτουργιών όπως της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος, τη δυσλειτουργία των ριβοσωμάτων και της πλασματικής μεμβράνης και την αναστολή κάποιας αντίδρασης του μεταβολισμού. Όμως, η αλόγιστη χρήση προκαλεί την εκδήλωση ανθεκτικότητας, η οποία συνδέεται με την εξελικτική πορεία των μικροοργανισμών και την ικανότητα προσαρμογής τους στο περιβάλλον. (van Hoek et al., 2011). Η ανάπτυξη της επιστήμης και της τεχνολογίας συνέβαλε στην ανακάλυψη των γονιδίων που συμβάλλουν στην ανθεκτικότητα των μικροβίων στα αντιβιοτικά, ταυτόχρονα με τη συνολική μελέτη του μικροβιώματος, το οποίο θεωρήθηκε ως μία “δεξαμενή γονιδίων”. Τα βακτήρια *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* και *Enterococcus faecium*

αποτελούν τα συνηθέστερα ενδονοσοκομειακά παθογόνα, τα οποία εμφανίζουν ανθεκτικότητα έναντι των φαρμάκων (Vincent, 2003). Γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά εντοπίζονται κυρίως στα βακτήρια των φύλων Firmicutes (52 %) και Proteobacteria (32 %) και λιγότερο στα Bacteroidetes (15 %) (Hu et al., 2013).

Οι αναστολείς αντλίας πρωτονίων είναι μία ομάδα φαρμάκων όπου μειώνουν την αφθονία και την ποικιλότητα του ανθρώπινου μικροβιακού οικοσυστήματος. Σχετικά με τη σύσταση του μικροβιώματος, η χρήση των παραπάνω φαρμάκων προκαλεί την αύξηση στα επίπεδα των βακτηρίων του φύλου Firmicutes και την αντίστοιχη μείωση των φύλων Bacteroidetes. Ειδικότερα, σε πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκε ότι σε ασθενείς στους οποίους είχαν χορηγηθεί αναστολείς αντλιών πρωτονίων υπήρχαν αυξημένα επίπεδα των γενών *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* και *Lactobacillus* από τα Firmicutes και *Rothia* από τα Actinobacteria (Imhann et al., 2015).

Μία ακόμη κατηγορία φαρμάκων που χρησιμοποιούνται ευρέως και προκαλούν μεταβολές στη σύσταση του μικροβιώματος του ανθρώπου είναι τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα. Η ιβουπροφένη είναι ευρέως χρησιμοποιούμενο αντιφλεγμονώδες, το οποίο προκαλεί αύξηση στα επίπεδα των βακτηρίων των οικογενειών Acidaminococcaceae που ανήκουν στα Firmicutes, Enterobacteriaceae και Pseudomonadaceae των Proteobacteria, Propionibacteriaceae των Actinobacteria και Rikenellaceae των Bacteroidetes. Ένα άλλο αντιφλεγμονώδες είναι η ναπροξένη, η οποία αυξάνει τα επίπεδα των Enterobacteriaceae, ενώ η κετορολάκη προκαλεί αύξηση στα επίπεδα των *Alistipes* που ανήκουν στα Bacteroidetes. Επίσης, η σιταλοπράμη που είναι αναστολέας της επαναπρόσληψης της σεροτονίνης και χρησιμοποιείται ως αντικαταθλιπτικό, αυξάνει τα επίπεδα των Enterobacteriaceae. Συνεπώς, και άλλα ακόμη φάρμακα που έχουν παρόμοια δράση, μπορεί να επιδρούν διαφορετικά στη σύσταση του μικροβιακού οικοσυστήματος. (Rogers and Aronoff, 2016).

Η ανάπτυξη του εντερικού μικροβιακού οικοσυστήματος είναι ένα πολύπλοκο και κρίσιμο συμβάν στην ανθρώπινη ζωή, πολύ μεταβλητό από άτομο σε άτομο και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, κάποιιοι εκ των οποίων, αναφέρθησαν παραπάνω (Wu G.D., Chen J et al., 2011)

1.5 Ο συσχετισμός μεταξύ της αλληλεπίδρασης της τροφής με το εντερικό μικροβίωμα.

Στη συμβιωτική αυτή σχέση μεταξύ των μικροοργανισμών και του ξενιστή οργανισμού, οι παράγοντες που δύνανται να παρέμβουν και να τροποποιήσουν την υπάρχουσα κατάσταση είναι ποικίλοι, με τη διατροφή, όπως έχει προαναφερθεί, να αποτελεί πρωτεύοντα και εύκολα τροποποιήσιμο στόχο θεραπευτικής παρέμβασης (Wu, Chen et al. 2011). Η υιοθέτηση μίας ισορροπημένης διαίτας έχει φανεί ότι συμβάλει στη διατήρηση ενός υγιούς εντερικού μικροβιώματος και μειώνει τον κίνδυνο ποικίλων ασθενειών (Houghton, Stewart et al. 2016). Ενδεικτικά των μελετών σε πειραματόζωα που αναδεικνύουν την αξία της διατροφής στη σύσταση του εντερικού μικροβιόκοσμου, αναφέρεται η μελέτη των Turnbaugh και συνεργατών αυτού (Turnbaugh, Hamady et al. 2009), κατά την οποία πραγματοποιήθηκε παρέμβαση με δίαιτα πλούσια σε διαιτητικές ίνες και φτωχή σε λίπος, και αλλαγή αυτής στη συνέχεια με δίαιτα πλούσια σε σάκχαρα και πλούσια σε λίπος. Στη συγκεκριμένη μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση του πληθυσμού του φύλου Firmicutes στις τάξεις Bacilli και Erysipelotrichi και παράλληλη μείωση του φύλου Bacteroidetes, μετά την αλλαγή της διαίτας. (Turnbaugh, Hamady et al. 2009). Αντίστοιχα αποτελέσματα σε ανθρώπινο επίπεδο λαμβάνουμε και από μελέτη παρατήρησης, σε κατοίκους αγροτικής περιοχής της Αφρικής και αστικής περιοχής της Ευρώπης, όπου παρατηρείται ότι στα άτομα της Αφρικής, που ακολουθούν δίαιτα πλούσια σε διαιτητικές ίνες και λαχανικά, ο πληθυσμός του φύλου Bacteroidetes είναι ενισχυμένος και του φύλου Firmicutes σχετικά μειωμένος συγκριτικά με τους αντίστοιχους πληθυσμούς μικροοργανισμών στους κατοίκους της Ευρώπης (που φαίνεται να καταναλώνουν δίαιτα πλούσια σε λίπος και ζάκχαρα και φτωχή σε ίνες και λαχανικά). (Houghton, Stewart et al. 2016).

Τέλος, μελέτη παρέμβασης σε ανθρώπους με δίαιτα εμπλουτισμένη σε άπεπτους υδατάνθρακες έδειξε αλλαγή στη σύσταση του εντερικού μικροβιόκοσμου μέσα σε λίγες μόλις ημέρες, συγκριτικά της ομάδας ελέγχου (Walker, Ince et al. 2011). Σε συγχρονική μελέτη που συμμετείχαν 98 εθελοντές μελετήθηκε σε δείγματα κοπράνων ο εντερικός τους μικροβιόκοσμος και έγινε διατροφική αξιολόγηση των εθελοντών. Σε δέκα από αυτούς έγινε διατροφική παρέμβαση σε ελεγχόμενες συνθήκες ώστε να συγκριθούν δύο δίαιτες, η μία πλούσια σε λίπος και φτωχή σε διαιτητικές ίνες και η άλλη φτωχή σε λίπος και πλούσια σε διαιτητικές ίνες. Τέλος, λήφθηκαν δείγματα βιοψίας από τους δέκα εθελοντές πριν και μετά τη δεκαήμερη παρέμβαση (Wu, Chen et al. 2011). Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης αναδεικνύουν την αξία και την επίδραση των μακροθρεπτικών συστατικών στη σύσταση του εντερικού μικροβιόκοσμου. Τα μακροθρεπτικά συστατικά, η πρωτεΐνη και το λίπος συσχετίζονται θετικά με τα επίπεδα των μικροοργανισμών του

γένους *Bacteroides* ενώ οι υδατάνθρακες παρουσιάζουν αρνητική συσχέτιση. Επίσης το γένος *Prevotella* συσχετίζεται θετικά με την κατανάλωση υδατανθράκων, ενώ αρνητικά με την κατανάλωση αμινοξέων και την πλειοψηφία των λιπαρών οξέων (Wu, Chen et al. 2011). Επίσης μετά από συσχέτιση των αποτελεσμάτων με την υπόθεση των 3 εντερότυπων (*Bacteroides*, *Prevotella*, και *Ruminococcus*) (Arumugam, Raes et al. 2011), προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα. Αρχικά, ο εντερότυπος, *Bacteroides* συσχετίζεται με αυξημένη κατανάλωση κορεσμένου λίπους και αμινοξέων, γεγονός, που αναδεικνύει ότι η αυξημένη κατανάλωση κρέατος, χαρακτηρίζει αυτό τον εντερότυπο. Εν συνεχεία, ο εντερότυπος *Prevotella* συσχετίζεται αρνητικά με τις τιμές λίπους και αμινοξέων ενώ παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την κατανάλωση των υδατανθράκων, συμπεριλαμβανομένων των απλών σακχάρων, γεγονός που συσχετίζει τον εντερότυπο αυτό με τη δίαιτα των αγροτικών περιοχών. Επιπροσθέτως παρατηρήθηκε πως ο εντερότυπος *Ruminococcus* δύσκολα διαχωρίζεται από τον εντερότυπο *Bacteroides* (Wu, Chen et al. 2011).

Συμπεράσματα κεφαλαίου:

Είναι γεγονός ότι συμβιώνουμε με ένα πλήθος μικροοργανισμών σε όλο το μήκος του ανθρώπινου σώματος, τα κύτταρα των οποίων είναι δέκα φορές περισσότερα από αυτά των δικών μας σωματικών και γεννητικών κυττάρων (Turnbaugh, Ley et al. 2007). Το σύνολο των μικροοργανισμών αυτών, βοηθά το άτομο ξενιστή του σε πλήθος ζωτικών και πολύτιμων για τον οργανισμό, λειτουργιών. Για το λόγο αυτό, αναγνωρίζεται το γεγονός ότι ένα υγιές και ισορροπημένο εντερικό μικροβίωμα, είναι το κλειδί για την εξασφάλιση της υγείας, καθώς και μίας ισορροπημένης πεπτικής λειτουργίας. (Gut Microbiota for Health, 2017). Το κάθε άτομο ξεχωριστά, φιλοξενεί μια μοναδική βακτηριακή κοινότητα στο έντερό του, η οποία ξεκινά να διαμορφώνεται από τη γέννηση του ατόμου και να τροποποιείται/μεταβάλλεται, ανάλογα των συνθηκών, έως το γήρας του (Sekirov, Russell et al. 2010), με τη διατροφή να έχει το σπουδαιότερο ρόλο σε αυτό (Wu, Chen et al. 2011). Έτσι λοιπόν, όπως ακολουθεί και στο επόμενο κεφάλαιο, η διατροφή, το μικροβίωμα του εντέρου, οι αλλεργίες και οι δυσανεξίες, φαίνεται να έχουν σημαντική συσχέτιση μεταξύ τους. Στο κεφάλαιο που ακολουθεί, παρατηρούνται ευρήματα όπου δείχνουν ότι το εντερικό μικροβίωμα μπορεί να ρυθμίσει την ευαισθησία στις τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες, υποδηλώνοντας την πιθανή θεραπευτική χρησιμότητά τους προς όφελος του ξενιστή. (GUEIMONDE M, COLLADO MC 2012). Αυτός είναι ένας τομέας μεγάλου

ενδιαφέροντος, λαμβάνοντας υπόψη τα πιθανά οφέλη και τις πιθανές ευκαιρίες για τη διαμόρφωση και την ανάπτυξη των θεραπευτικών μεθόδων απέναντι των τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών. (Fehley T, Stefka AT, et al. 2012).

Κεφάλαιο 2: Η γενική ανάλυση της συσχέτισης του εντερικού μικροβιώματος με τις δυσανεξίες και τις αλλεργίες.

2.1 Η συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με τις διάφορες αλλεργίες και δυσανεξίες στον άνθρωπο.

Ο όρος ‘επιβλαβείς αντιδράσεις που προκαλούνται από την κατανάλωση τροφίμων σε έναν οργανισμό’, περιλαμβάνει δύο κατηγορίες: 1. Την τροφική αλλεργία και 2. Την τροφική δυσανεξία. Η τροφική αλλεργία εμφανίζεται συνήθως όταν το ανοσοποιητικό σύστημα αντιδρά επιθετικά απέναντι σε μια ουσία που συνήθως είναι ακίνδυνη, διότι λανθασμένα αναγνωρίζει ως επικίνδυνη. Η τροφική αλλεργία περιλαμβάνει τις αντιδράσεις στις οποίες συμμετέχει η ανοσοσφαιρίνη E (IgE) και αυτές στις οποίες δεν συμμετέχει (Plaza-Martin, 2016). Ο μόνος γνωστός και αποδεδειγμένος ανοσολογικός μηχανισμός της τροφικής αλλεργίας είναι αυτός ο οποίος έχει ως διαμεσολαβητή την ανοσοσφαιρίνη E IgE, ενώ οι υπόλοιποι ανοσολογικοί μηχανισμοί μελετώνται ακόμα. Οι αλλεργικές αντιδράσεις στα τρόφιμα κατατάσσονται σε άμεσες και σε καθυστερημένες. Οι άμεσες αντιδράσεις συμβαίνουν λίγα λεπτά έως μερικές ώρες (συνήθως όχι περισσότερες από δύο) μετά την κατάποση και είναι χαρακτηριστικές των IgE-μεσολαβόμενων αλλεργιών. Οι ‘καθυστερημένες’ αντιδράσεις συμβαίνουν μερικές ώρες έως μερικές ημέρες μετά την κατάποση, και τυπικά συνεπάγονται ως κύτταρο-ανοσοαποκρίσεις (Plaza-Martin, 2016). Η τροφική αλλεργία είναι ένα κλινικό πρόβλημα δημόσιας υγείας που επηρεάζει άμεσα τον τρόπο διαβίωσης των πασχόντων ατόμων. Η αλλεργία ως κλινικό πρόβλημα, περιλαμβάνει άμεσα συμπτώματα τα οποία επηρεάζουν το δέρμα, το αναπνευστικό, το γαστρεντερικό ή και το καρδιαγγειακό σύστημα. Η αιτία της τροφικής αλλεργίας συνεπάγεται την απόκλιση από μια προεπιλεγμένη κατάσταση ανοσολογικής ανοχής, που πιθανότατα οφείλεται στην έκθεση του οργανισμού σε αντιγόνα.

Η δυσανεξία εν συνεχεία, στα τρόφιμα μπορεί να οφείλεται σε φαρμακολογικό, μεταβολικό, μικτό ή ιδιοσυγκρασιακό μηχανισμό. Οι κλινικές εκδηλώσεις συνήθως εξαρτώνται από την ποσότητα της πρόσληψης του συστατικού του τροφίμου, που την προκαλεί. Η πιο κοινή και γνωστή τροφική δυσανεξία είναι εκείνη στη λακτόζη, η οποία είναι μεταβολικός τύπος. Η κύρια θεραπεία των ανεπιθύμητων ενεργειών από τα διάφορα

τρόφιμα, περιλαμβάνει την αποφυγή της αιτιώδους τροφής, όπου η κατανάλωσή της προκαλεί την ανεπιθύμητη αντίδραση. (Boyce JA, Assa'ad Aet al. 2010).

Οι μόνιμες μικροβιακές κοινότητες ξεπερνούν κατά πολύ τα ανθρώπινα κύτταρα και γονίδια, γεγονός το οποίο ενθαρρύνει το ενδιαφέρον για τον τρόπο με τον οποίο ρυθμίζουν τις λειτουργίες τους και το πώς συμβιώνουν με το άτομο-ξενιστή επηρεάζοντας άμεσα την ανοσολογική ανάπτυξη του ξενιστή τους, καθώς και του κινδύνου εμφάνισης δυσανεξιών και αλλεργικών διαταραχών. (Bunyavanich S, Schadt EE. 2015). Τις τελευταίες μάλιστα δεκαετίες, ο επιπολασμός αλλεργικών παθήσεων όπως το άσθμα, το έκζεμα, η ρινίτιδα και οι τροφικές αλλεργίες, έχει αυξηθεί με τόσο ανησυχητικό ρυθμό που αυτές οι ασθένειες αντιπροσωπεύουν πλέον μερικές από τις πιο κοινές χρόνιες παθήσεις της παιδικής ηλικίας στις εύπορες χώρες (Fehley T, Stefka AT, et al. 2012). Η αύξηση των ποσοστών τροφικής αλλεργίας, αντιπροσωπεύει μία ιδιαίτερα επείγουσα ανησυχία για την υγειονομική περίθαλψη, καθώς οι τροφικές αλλεργίες συχνά συνυπάρχουν με άλλες μορφές αλλεργίας οι οποίες μπορεί να είναι απειλητικές για τη ζωή και να έχουν μόνο την αποφυγή συγκεκριμένων τροφών ως την κύρια στρατηγική θεραπείας ή ύφεσής τους (Prescott S, Allen KJ. 2011). Πρόσφατες μελέτες έχουν υπογραμμίσει τη σημασία της κοινότητας των κοινών και συμβιωτικών μικροβίων που κατοικούν στο γαστρεντερικό σωλήνα, γνωστό ως εντερικό μικροβίωμα, στην ανθρώπινη υγεία. Επιπλέον, οι διάφορες καταστάσεις που προκύπτουν από τη δυσβίωση του μικροβιώματος του εντέρου, ενδέχεται με τη σειρά τους να επηρεάσουν τη συχνότητα εμφάνισης αλλεργικών καταστάσεων σε επίπεδο πληθυσμού (Holgate ST. 1999).

Μελέτες του μικροβιώματος σε ανθρώπους με δυσανεξίες και τροφικές αλλεργίες, έχουν μέχρι στιγμής αποφέρει ποικίλα ευρήματα. Οι πρώτες μελέτες του μικροβιώματος του εντέρου συγκριτικά με τις αλλεργίες στα τρόφιμα βασίστηκαν στην καλλιέργεια μικροβιώματος, με στόχο ομάδες αλλά και μεμονωμένα βακτήρια τα οποία ενδιαφέρουν ώστε να διερευνηθεί η σχέση μεταξύ αυτών, του εντέρου και των τροφικών αλλεργιών. Για παράδειγμα, μια πολιτιστική προσέγγιση παιδιών από την Ισπανία, με αλλεργία στο γάλα (με βάση την ευαισθητοποίηση μέσω δοκιμής διάτρησης δέρματος [SPT] > 3 mm, sIgE 0,35 kUA / L, και χορήγηση γάλακτος), έδειξε ότι βρέφη τα οποία ήταν αλλεργικά στο γάλα είχαν υψηλότερες αναλογίες γαλακτοβακίλλων και χαμηλότερες αναλογίες εντεροβακτηρίων και bifidobacteria που παρατηρήθηκαν στις βακτηριακές τους καλλιέργειες, από εκείνα που δεν ήταν αλλεργικά στο γάλα. (Thompson-Chagoyan OC, Vieites JM, et al. 2010). Μελέτες του μικροβιώματος του εντέρου σε σχέση με τροφικές

αλλεργίες, υποδηλώνουν έναν επιπλέον κρίσιμο ρόλο της συσχέτισης αυτών. Το μικροβίωμα του εντέρου είναι γνωστό ότι αλλάζει με την πάροδο του χρόνου, όπως αναφέρθηκε στις προηγούμενες ενότητες, με την πιο γρήγορη αλλαγή να συμβαίνει στην πρώιμη ζωή (Yatsunenko T, Rey FE, et al. 2012). Στην ανάπτυξη του υγιούς βρέφους, ο μικροβιακός πλούτος του εντέρου στην ηλικία των 3 μηνών συσχετίστηκε με αυξημένη πιθανότητα ευαισθητοποίησης για αλλεργίες, σε σχέση με την ηλικία του 1 έτους (Azad, Konya et al. 2015). Πέρα από την ευαισθητοποίηση των αλλεργιογόνων στα τρόφιμα, μια διαχρονική μελέτη 226 παιδιών, αλλεργικών στο γάλα, από τις Ηνωμένες Πολιτείες, εξέτασε τη σχέση μεταξύ του βρέφους, του εντερικού του μικροβιώματος και της αλλεργίας στα τρόφιμα, με πιο συγκεκριμένα, της αλλεργίας στο γάλα. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι το γένος Firmicutes συμπεριλαμβανομένου του γένους Clostridia, υπήρχαν σε αφθονία στο εντερικό μικροβίωμα των βρεφών ηλικίας 3 έως 6 μηνών των οποίων η αλλεργία στο γάλα υποχώρησε μέχρι την ηλικία των 8 ετών. (Bunyavanich S, Shen N, et al. 2016). Ωστόσο, σε μεγαλύτερα παιδιά, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της σύνθεσης του εντερικού μικροβιώματος και της αλλεργίας στο γάλα. Ευρήματα από μοντέλα ποντικών υποστηρίζουν επίσης τη συσχέτιση μεταξύ ηλικίας και ευαισθητοποίησης στα μικροβιοτικά. (Olszak T, An D, et al. 2012). Ο μικροβιακός εντερικός αποικισμός των ποντικών με διαφορετικό μικροβιακό πληθυσμό σε νεαρή ηλικία, σε σχέση με τον άνθρωπο, (δεν ισχύει το ίδιο για προχωρημένη ηλικία), φάνηκε να καταστέλλει την ανοσοσφαιρίνη IgE και έτσι, εμποδίζει τα ποντίκια στο να αναπτύξουν τροφική αλλεργία. (Cahenzli J, Koller Y, et al. 2013). Αυτά τα συλλογικά ευρήματα υποστηρίζουν την ιδέα ότι μικροβιακές επιδράσεις στην πρώιμη ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος του ατόμου, μπορούν να παίξουν σημαντικό ρόλο στην επακόλουθη ανάπτυξη τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών. (Cahenzli J, Koller Y, et al. 2013).

Συμπεραίνεται ότι ο αρχικός χρόνος έκθεσης του οργανισμού, μετά τη γέννηση, στην εντερική μικροχλωρίδα είναι σημαντικός όχι μόνο για την ανάπτυξη και την ωρίμανση της ανοσολογικής απάντησης του οργανισμού, αλλά και για την προστασία από μελλοντικές ανοσοαλλεργικές νόσους. Σύμφωνα με επιδημιολογικές παρατηρήσεις, στις αναπτυσσόμενες χώρες παρατηρείται μικρότερη επίπτωση σε αλλεργικά νοσήματα, όπως είναι για παράδειγμα το άσθμα, σε σχέση με τις αναπτυγμένες. Για την ερμηνεία των εν λόγω παρατηρήσεων αναπτύχθηκε η «υπόθεση υγιεινής», σύμφωνα με την οποία η έκθεση σε μη παθογόνα βακτήρια κατά την παιδική ηλικία μπορεί να οδηγήσει σε ασθματικό

φαινότυπο, λόγω επίδρασής τους στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος. Το γεγονός αυτό, μπορεί να οφείλεται στο ότι στις αναπτυσσόμενες χώρες υπάρχουν μεγαλύτερες οικογένειες, επίσης στο ότι μεγάλο τμήμα του πληθυσμού διαμένει σε αγροτικές περιοχές, με λιγότερο καλές συνθήκες υγιεινής και στο ότι παράλληλα, παρατηρείται μικρότερη χρήση αντιβιοτικών και μεγαλύτερος επιπολασμός σε έλμινθες (σκώληκες-παράσιτα του εντέρου, μετάζωα). (FERREIRA,VELDHOEN 2012).

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 αναπτυγμένες κοινωνίες, οδηγούν σε λιγότερο αναπτυγμένη εντερική μικροχλωρίδα. Αυτό το «ανώριμο» μικροβίωμα, όπως αποκαλέστηκε, καθυστερεί την κατάλληλη ωρίμανση του ανοσοποιητικού συστήματος, διαταράσσοντας τη σωστή αλληλουχία των γεγονότων που προωθούν την ανάπτυξη της ανοσολογικής ανοχής και κατά συνέπεια, αυξάνοντας την επίπτωση της αλλεργικής υπερευαισθησίας. (NOVERR, HUFFNAGLE 2005). Προοπτικές μελέτες έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι σημαντικές μειώσεις σε ορισμένες κατηγορίες μελών του εντερικού μικροβιώματος 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. (SJÖGREN, JENMALM et al. 2009). Αυξημένος λόγος Bacteroidetes προς 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 πιο εύπορα νοικοκυριά είχαν μεγαλύτερη ποικιλομορφία στο προφίλ της μικροχλωρίδας τους. (BJÖRKSTÉN B, SEPP E, et al. 2001).

2.1.1 Οι πηγές άντλησης της γνώσης για τη συσχέτιση αυτή.

Η γνώση για το ρόλο του μικροβιώματος του εντέρου στην τροφική αλλεργία και τη δυσανεξία, είναι ένας αναδυόμενος τομέας με άφθονες δυνατότητες στο να εμβαθύνει στις τρέχουσες εστίες και να αναπτύξει νέες κατευθύνσεις για την αντιμετώπισή τους. Για τις

μελέτες του μικροβιώματος του ανθρώπινου εντέρου, της τροφικής αλλεργίας και δυσανεξίας, απαιτείται προσεκτικός προοπτικός σχεδιασμός μελέτης και εκτέλεσή της σε πλήθος δειγμάτων. Αυτό είναι απαραίτητο ώστε να μπορούν να καταστούν αξιόπιστα τα ευρήματα, τα οποία και θα επιτρέπουν έγκυρες συγκρίσεις μεταξύ των μελετών. (Huang YJ, Marsland BJ et al. 2017). Έχει αποδειχθεί ότι οι μελέτες σε ποντίκια απέδωσαν πολλές πληροφορίες, γνώσεις και ευρήματα στο θέμα αυτό. Παρ' όλα αυτά όμως, θα χρειαστεί επιπλέον εργασία και μελέτη πάνω σε αυτό το θέμα ώστε να εκτιμηθεί κατά πόσο ο βαθμός στον οποίο τα ευρήματα που προήλθαν από τα ποντίκια, μπορούν να μεταφραστούν και σε ανθρώπινο πλαίσιο. (Huang YJ, Marsland BJ et al. 2017).

Οι περισσότερες τρέχουσες έρευνες του εντερικού μικροβιώματος στην τροφική αλλεργία και στη δυσανεξία, έχουν επικεντρωθεί στα βακτηριακά μικροβιώματα. (Huang YJ, Marsland BJ et al. 2017). Η κατανόησή μας για τη σχέση του μικροβιώματος με την τροφική αλλεργία και τη δυσανεξία έχει αναπτυχθεί όχι μόνο από τις μελέτες του μικροβίου, αλλά και από δεδομένα που παράγονται μέσω συσχέτισής τους με ολόκληρο το γονιδίωμα και το μεταβολισμό. (Marenholz I, Grosche S, et al. 2017), (Hong X, Hao K et al. 2015). Τα βακτήρια, οι ιοί και οι μύκητες αλληλεπιδρούν με το ανθρώπινο γονιδίωμα με πολύπλοκους τρόπους ώστε να επηρεάσουν στην τροφική αλλεργία και δυσανεξία. (Knight R, Callewaert C, et al. 2017), (Gilbert JA, Quinn RA, et al. 2016). Οι προσεγγίσεις πολλών πειραματικών μεθόδων, καθώς και οι προσεγγίσεις της επιστήμης της βιολογίας, έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για την εξέταση των σχέσεων μεταξύ του μικροβιώματος και του γονιδιωματικού προφίλ του ξενιστή και δύνανται να παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για την αλληλεπίδρασή τους σχετικά με την τροφική αλλεργία και δυσανεξία στον άνθρωπο, από την παιδική του κιόλας ηλικία. (Jostins L, Ripke S, et al. 2012), (Virgin HW, Todd JA 2011).

2.2 Η θεραπευτική χρησιμότητα του μικροβιώματος του εντέρου στις αλλεργίες και δυσανεξίες και οι τρόποι χειρισμού τους, προς όφελος του ξενιστή.

Τα ευρήματα ότι τα μικροβιώματα του εντέρου μπορούν να ρυθμίσουν την ευαισθησία στις τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες, υποδηλώνουν την πιθανή θεραπευτική χρησιμότητα από τον χειρισμό του μικροβιώματος του εντέρου, προς όφελος του ξενιστή. (GUEIMONDE M, COLLADO MC 2012). Αυτός είναι ένας τομέας μεγάλου

ενδιαφέροντος, λαμβάνοντας υπόψη τα πιθανά οφέλη και τις πιθανές ευκαιρίες για τη διαμόρφωση και την ανάπτυξη των θεραπευτικών μεθόδων των τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών. Οι πιθανοί τρόποι ‘χειρισμού’ των μικροβίων του εντέρου περιλαμβάνουν τα προβιοτικά, τα πρεβιοτικά, τα συνβιοτικά, καθώς και τη μεταμόσχευση μικροβιώματος των κοπράνων. (GUEIMONDE M, COLLADO MC 2012). Όλα τα προαναφερθέντα, αναλύονται ανά κατηγορία συνεχίζοντας.

2.2.1 Προβιοτικά

Τα προβιοτικά ορίζονται ως “ζωντανοί μικροοργανισμοί”, οι οποίοι χορηγούμενοι σε επαρκή ποσότητα έχουν ωφέλιμη επίδραση στον ξενιστή. Ο ορισμός αυτός, αναφέρεται σε στελέχη μικροβίων για τα οποία έχει αποδειχθεί με επιστημονικό τρόπο η ευεργετική επίδρασή τους στον οργανισμό. (SGOURAS DN, PANAYOTOPOULOU EG 2005). Οι FAO/WHO (2001) ορίζουν ως προβιοτικά τους ζωντανούς μικροοργανισμούς, που όταν καταναλωθούν σε επαρκείς ποσότητες, έχουν θετική επίδραση στην υγεία του ξενιστή (FAO/WHO 2001), ενώ λίγα χρόνια αργότερα, προτάθηκε να ταξινομηθούν ως προβιοτικά τα αδρανοποιημένα βακτήρια ή τα βακτήρια με προβιοτικές ιδιότητες. Επίσης, για να χαρακτηριστεί ως προβιοτικό ένα σκεύασμα, θα πρέπει να έχει και κάποιες δράσεις, όπως για παράδειγμα να αποκαθιστά την εντερική μικροχλωρίδα και να την προφυλάσσει από διάρροιες ή ρετροϊούς, κ.ά (World Gastroenterology Organisation 2008). Τα περισσότερα στελέχη βακτηρίων που χρησιμοποιούνται σήμερα ως προβιοτικά έχουν απομονωθεί από την εντερική μικροχλωρίδα υγιών ατόμων και ανήκουν κυρίως στα γένη των *Lactobacillus* και των *Bifidobacterium*. Πιθανοί μηχανισμοί δράσης των προβιοτικών έχουν προκύψει από τελευταίες μελέτες και φαίνεται να ασκούνται μέσω τροποποίησης της εντερικής μικροχλωρίδας ή της δραστηριότητας της. Αυτό μπορεί να συμβαίνει με διάφορους τρόπους (Del Piano M., Morelli L., et al. (2006). Κάποιοι από αυτούς είναι, η αύξηση παραγωγής εντερικής βλέννης, η παραγωγή αντιμικροβιακών ή μεταβολικών παραγόντων που αναστέλλουν την ανάπτυξη παθογόνων, η ενίσχυση της ακεραιότητας του εντερικού βλεννογόνου και η μειωμένη αλλόθεση μικροβίων, η ενεργοποίηση φυσικών ‘φονικών’ κυττάρων, μακροφάγων, φαγοκυττάρωσης, η αύξηση κυττάρων που εκκρίνουν ανοσοσφαιρίνες IgA, IgG, IgM, η τροποποίηση της φλεγμονώδους αντίδρασης στον εντερικό βλεννογόνο. (Agostoni et al. 2004), (SGOURAS DN, PANAYOTOPOULOU EG, et al. 2005).

Όμως, αν και ορισμένες ωφέλιμες επιδράσεις έχουν αποδειχθεί με πειράματα σε ζώα ή κλινικές μελέτες σε ανθρώπους, άλλες επιδράσεις μένουν ακόμη υποθετικές και δεν έχουν

τεκμηριωθεί. Σε ορισμένες μάλιστα περιπτώσεις τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα, ανάλογα με τον πληθυσμό που ελέγχεται. (SGOURAS DN, PANAYOTOPOULOU EG, et al. 2005). Ωστόσο, κλινικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν και στις οποίες χορηγήθηκαν προβιοτικά συμπληρώματα *Lactobacillus casei* και *Bifidobacterium lactis* σε παιδιά με αλλεργία στο γάλα, για 12 μήνες, δεν έδειξαν σημαντική αλλαγή στην ανοχή του γάλακτος. (Berni Canani R, Nocerino R, et al. 2012), (Hol J, van Leer EH et al. 2008). Στους 12 αυτούς μήνες, η διαφορά στην ανοχή του γάλακτος ήταν στο ποσοστό περί του 0,20% συγκριτικά των αρχικών δειγμάτων. (Berni Canani R, Nocerino R, et al. 2012), (Hol J, van Leer EH et al. 2008). Μία μεταγενέστερη όμως μελέτη, η οποία συνέκρινε τα κόπρανα από υγιή βρέφη και τα κόπρανα από βρέφη με αλλεργία στο αγελαδινό γάλα, πριν και μετά από τη θεραπεία με ειδική υδρολυμένη φόρμουλα προβιοτικών, έδειξε ότι τα μικροβιακά γένη *Blautia* και *Roseburia* εμπλουτίστηκαν στο μικροβίωμα του εντέρου των βρεφών μετά από τη λήψη της φόρμουλας. Τα γένη αυτά έπειτα, συσχετίστηκαν με υψηλότερες συγκεντρώσεις λιπών βραχέας αλύσου, πιο συγκεκριμένα με του βουτυρικού οξέως και εν συνεχεία, με μεγαλύτερη ανοχή των βρεφών στο αγελαδινό γάλα. Γεγονός το οποίο οδήγησε τους ερευνητές να υποθέσουν ότι η απόκτηση συγκεκριμένων στελεχών σε αυτά τα γένη, σχετίζεται με την ανοχή. (Berni Canani R, Sangwan N et al. 2016). Μεγάλο μέρος των ερευνών για τα προβιοτικά και την τροφική αλλεργία επικεντρώθηκε στα άτομα με αλλεργία στο αγελαδινό γάλα, με πολύ λιγότερες μελέτες να εστιάζουν στις άλλες τροφικές αλλεργίες. Ωστόσο, πιστεύεται ότι η λογική της επίδρασης των προβιοτικών και στις άλλες τροφικές αλλεργίες είναι η ανάλογη, καθώς το γένος *Lactobacillus rhamnosus* έχει επίσης μελετηθεί και για άλλες τροφικές αλλεργίες, όπως είναι για παράδειγμα η αλλεργία στα φιστίκια. Σε μια κλινική δοκιμή, αποτελούμενη από δύο ομάδες ατόμων με αλλεργία στα φιστίκια, το *Lactobacillus rhamnosus* χορηγήθηκε με από του στόματος ανοσοθεραπεία, για 18 μήνες, στην πρώτη ομάδα. Ενώ, στη δεύτερη ομάδα χορηγήθηκε εικονικό φάρμακο. Τα άτομα που έλαβαν τη θεραπεία με το *Lactobacillus rhamnosus*, είχαν υψηλότερα ποσοστά απευαισθητοποίησης της αλλεργίας στα φιστίκια, σε σύγκριση με τα άτομα που λάμβαναν το εικονικό φάρμακο (82,1% έναντι 3,6%, αντίστοιχα) (Tang ML, Ponsonby AL et al. 2015).

Συνολικά, θα μπορούσε να ειπωθεί ότι μέχρι σήμερα η ευεργετική δράση των προβιοτικών στις αλλεργίες και στις δυσανεξίες, δεν έχει απολύτως τεκμηριωθεί, με εξαίρεση ορισμένες περιπτώσεις. 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 είναι η παραγωγή αντιμικροβιακών ή μεταβολικών παραγόντων που αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων βακτηρίων στο έντερο, η ενίσχυση της ακεραιότητας του εντερικού φραγμού, με συνέπεια την ελαττωμένη εναπόθεση μικροβίων, η τροποποίηση των μηχανισμών ανοσίας του γαστρεντερικού συστήματος, με συνέπεια τη διατήρηση ή την τροποποίηση της ανοσολογικής ανοχής προς τα μικρόβια του εντερικού αυλού. (SGOURAS DN, PANAYOTOPOULOU EG 2005). Εάν λοιπόν, η δράση των προβιοτικών ασκείται μέσω της επίδρασής τους στην εντερική μικροχλωρίδα, τότε η ποικιλομορφία των εντερικών μικροχλωρίδων ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, τη φυλή κτλ. μπορεί να είναι υπεύθυνη για τα αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με την επίδραση των προβιοτικών. (SGOURAS DN, PANAYOTOPOULOU EG 2005).

Δεδομένης της περιορισμένης συνολικής βιβλιογραφίας για τα προβιοτικά και την τροφική αλλεργία και δυσανεξία μέχρι στιγμής, η πιο πρόσφατη ανασκόπηση Cochrane (Osborn DA, Sinn JK 2007) αναφέρει ότι χρειάζονται περισσότερα δεδομένα προτού γίνουν συστάσεις για την υποστήριξη των προβιοτικών συμπληρωμάτων στις τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες. Αυτό υποστηρίζεται και από πιο πρόσφατες μετα-αναλύσεις επί του θέματος (Cuello-Garcia CA, Brozek JLet al.2015) καθώς επίσης, αναγνωρίζεται και από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Αλλεργίας το γεγονός ότι υπάρχουν "πολύ χαμηλής ποιότητας στοιχεία" επί του θέματος, προς το παρόν. (Fiocchi A, Pawankar R et al. 2015). Παρ' όλα αυτά όμως, οι νέες τεχνολογίες που αναπτύσσονται για τη μελέτη των μικροχλωρίδων, πιστεύεται ότι θα επιτρέψουν την περαιτέρω μελέτη των επιδράσεων των προβιοτικών και 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 από ότι τις τελευταίες δεκαετίες, τις διαφορές στη σύνθεση της εντερικής μικροχλωρίδας μεταξύ των φυσιολογικών ατόμων και των ατόμων με συγκεκριμένες παθήσεις και έτσι, μπορεί να σχεδιαστούν συστηματικές μελέτες για τη μεταβολή που υφίσταται η εντερική μικροχλωρίδα κατά τη χορήγηση των προβιοτικών. Επιπλέον, η εκτεταμένη γονιδιακή ανάλυση έχει αναδείξει τα γονίδια τα οποία επιτρέπουν στα στελέχη *Lactobacillus* και *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 εξέτασης των ιδιοτήτων των προτεινομένων προβιοτικών στελεχών, καθώς και της επιλογής των πλέον κατάλληλων από αυτά, για περαιτέρω μελέτη. (GUEIMONDE M, COLLADO MC 2012). Δεδομένου μάλιστα ότι

κάθε άτομο έχει ξεχωριστή μικροχλωρίδα, δεν αποκλείεται στο μέλλον να επιλέγονται προβιοτικά σχεδιασμένα για τις ανάγκες του κάθε ατόμου ξεχωριστά, ανοίγοντας έτσι μια ακόμη προοπτική για την εφαρμογή μίας πιο εξατομικευμένης θεραπείας. (BARZEGARI A, SAEI AA. 2012). 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. (BARZEGARI A, SAEI AA. 2012).

2.2.2 Πρεβιοτικά

Τα πρεβιοτικά, είναι μη εύπεπτα συστατικά των τροφίμων, τα οποία προάγουν επιλεκτικά την ανάπτυξη και τη δραστηριοποίηση επιλεγμένων κοινών μικροβίων στον ξενιστή. Τα πρεβιοτικά ορίστηκαν αρχικά το 1995 από τους Gibson και Roberfroid ως “ένα μη εύπεπτο συστατικό της τροφής που επηρεάζει ευεργετικά τον ξενιστή”. Αυτό ειπώθηκε, διότι παρατηρήθηκε το γεγονός ότι διεγείροντας επιλεκτικά την ανάπτυξη ή και τη δραστηριότητα ενός ή περιορισμένου αριθμού βακτηρίων στο παχύ έντερο, μπορεί να βελτιωθεί η υγεία του ξενιστή. (Gibson GR, Beatty ER, et al. 1995). Το 2004, ο ορισμός του πρεβιοτικού ενημερώθηκε για να προστεθούν τρία ακόμη κριτήρια: 1) είναι ανθεκτικά στη γαστρική οξύτητα, καθώς και στην υδρόλυση από τα ένζυμα των θηλαστικών, καθώς επίσης είναι ανθεκτικά και κατά τη γαστρεντερική απορρόφηση, 2) έχουν υποστεί ζύμωση από τα εντερικά μικροβιώματα και 3) διεγείρουν επιλεκτικά την ανάπτυξη ή και τη δραστηριότητα των εντερικών βακτηρίων τα οποία σχετίζονται με την υγεία και την ευημερία του ξενιστή. (Gibson GR, Probert HM, et al. 2004).

Μία διατροφική στρατηγική για τη ρύθμιση του μικροβιώματος, είναι η κατανάλωση φυτικών ινών και πρεβιοτικών. Οι φυτικές ίνες και τα πρεβιοτικά μπορούν να μεταβολιστούν από το εντερικό μικροβίωμα στο γαστρεντερικό σωλήνα. Τα ανθρώπινα διατροφικά ένζυμα, δεν είναι σε θέση να αφομοιώσουν τους περισσότερους σύνθετους υδατάνθρακες και τους φυτικούς πολυσακχαρίτες. Αντ 'αυτού, αυτοί οι πολυσακχαρίτες μεταβολίζονται από μικρόβια που παράγουν λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs), συμπεριλαμβανομένων των οξικών, προπιονικών και βουτυρικών οξέων. Οι διαιτητικές ίνες, καθώς και πολυμερή υδατανθράκων που δεν χωνεύονται ούτε απορροφώνται, υποβάλλονται σε βακτηριακή ζύμωση στο γαστρεντερικό σωλήνα και έτσι επηρεάζουν τη σύνθεση των βακτηριακών κοινοτήτων καθώς και τις μικροβιακές μεταβολικές δραστηριότητες. Στις δραστηριότητες αυτές συμπεριλαμβάνεται η παραγωγή τελικών προϊόντων ζύμωσης. Τα πρεβιοτικά ορίζονται ως “επιλεκτικά ζυμωμένα συστατικά που

οδηγούν σε συγκεκριμένες αλλαγές, στη σύνθεση ή και τη δραστηριότητα του γαστρεντερικού μικροβιώματος, προσφέροντας έτσι οφέλη στην υγεία του ατόμου ξενιστή”. Ορισμένες διαιτητικές ίνες μπορούν να ταξινομηθούν ως πρεβιοτικά, όμως δε μπορούν όλες οι ίνες να ταξινομηθούν ως πρεβιοτικές. Ωστόσο, τα περισσότερα πρεβιοτικά μπορούν να ταξινομηθούν ως διαιτητικές ίνες. (Slavin J. 2013). Για παράδειγμα, οι ίνες, είναι ένα πρεβιοτικό που χρησιμοποιούν πολλά βακτήρια του εντέρου ως θρεπτικό συστατικό και έτσι με τη σειρά τους, παράγουν λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου, τα οποία πιστεύεται ότι δρουν ευεργετικά ως προς την αναστολή των αλλεργικών φλεγμονών. (Agraia N, Campbell C, et al. 2013), (Furusawa Y, Obata Y et al. 2013). Τα πρεβιοτικά προστίθενται συχνά στα παρασκευάσματα για βρέφη. Τα αποτελεσματικά πρεβιοτικά δεν χωνεύονται ούτε απορροφώνται στην άνω γαστρεντερική οδό και φτάνουν στο παχύ έντερο, όπου εκεί χρησιμοποιούνται επιλεκτικά από μικροοργανισμούς, με αποτελέσματα που προάγουν την καλή υγεία. (Osborn DA, Sinn JK. 2013). Κλινικές δοκιμές πρεβιοτικών συμπληρωμάτων σε βρέφη δεν έδειξαν καμία επίδραση στην ανάπτυξη τροφικής αλλεργίας. Ωστόσο, ο κίνδυνος άσθματος και εκζέματος μειώθηκε, έπειτα από χορήγηση πρεβιοτικών, σε ορισμένες μεμονωμένες μελέτες. (Osborn DA, Sinn JK. 2013), (Wopereis H, Sim K, 2018).

2.2.3 Συνβιωτικά

Οι συνδυασμοί των προβιοτικών και των πρεβιοτικών, ονομάζονται “συνβιωτικά”. (Burks AW, Harthoorn LF et al. 2015). Η συσχέτιση δηλαδή, ενός (ή περισσότερων) προβιοτικών με ένα (ή περισσότερα) πρεβιοτικά, ονομάζεται ως “συνβιωτικό”. Αυτό το συμπληρωματικό πρεβιοτικό και το συνεργικό προβιοτικό, παρουσιάζουν υπό αυτή τη δομή, έναν πολλαπλασιαστικό παράγοντα απέναντι στις ατομικές τους ευεργετικές ενέργειες. Η παρουσία των πρεβιοτικών επιτρέπει στα προβιοτικά βακτήρια να επιβιώνουν κατά την διαδικασία της πέψης και της μετάβασής τους στο έντερο, ενώ παράλληλα τα βοηθά να αναπτυχθούν, εξασφαλίζοντας την ισορροπία της εντερικής μικροχλωρίδας. Τα προβιοτικά στελέχη τα οποία χρησιμοποιούνται πιο συχνά στα συνβιωτικά συμπληρώματα διατροφής είναι οι λακτοβάκιλοι, τα βιφιδοβακτήρια, ο σακχαρομύκητας *Boulardii* και ο βάκιλος *Coagulans*, και συνήθως συνδυάζονται με πρεβιοτικά τα οποία προέρχονται από φυσικές πηγές, όπως οι φρουκτο-ολιγοσακχαρίτες (FOS), οι γαλακτο-ολιγοσακχαρίτες (GOS) και η ινουλίνη. Η χρήση των συνβιωτικών έχει μελετηθεί εκτενώς και έχει δείξει νέες υποσχόμενες εναλλακτικές λύσεις για τη χρήση τους, σε συνδυασμό με αντιβιοτικά ή

και μεμονωμένα. Η αποκατάσταση του μικροπεριβάλλοντος με συνβιωτικά, βελτιώνει την απορρόφηση του γαστρεντερικού σωλήνα και αυξάνει την ανοσία των ασθενών σε αλλεργίες και δυσανεξίες (Hord N.G. 2008), (Ruemmele F.M, et al. 2009). Μελέτες δείχνουν επίσης, ότι η θεραπεία με συμβιωτικά μπορεί να είναι μία καλή στρατηγική για την πρόληψη και τη μείωση των μετεγχειρητικών λοιμώξεων. Το μέγεθος της επίδρασης εξαρτάται από τον τύπο του συμβιωτικού παρασκευάσματος καθώς και από τη συγκέντρωση των μικροοργανισμών στην ένωση. (Gianotti L, et al. 2010), (Rayes N, et al. 2007), (Van Santvoort HC, et al. 2008). Η χρήση συμβιωτικών καλλιεργειών αποκλείει επίσης τη δράση των δυνητικά παθογόνων μικροοργανισμών, οι οποίοι αναστέλλονται από την παραγωγή οργανικών οξέων (γαλακτικό, προπιονικό, βουτυρικό και οξικό) και βακτηριοκινών, ενισχύοντας έτσι τους φυσικούς αμυντικούς μηχανισμούς. (Gil A, Bengmark S. 2006). Ένας άλλος σχετικός παράγοντας όπου δείχνει την ωφελιμότητα των συμβιωτικών, είναι ο κλινικός εντερικός φραγμός, καθώς οι υποσιτισμένοι ασθενείς συνήθως έχουν απώλειες στην ισορροπία του εντερικού φραγμού. (Fooks L.J., Gibson G.R. 2002). Η εντερική μικροχλωρίδα είναι ένα σημαντικό συστατικό της άμυνας του εντερικού φραγμού προωθώντας την τοπική ανοσοαπόκριση σε συστηματικό επίπεδο, με έντονη φλεγμονώδη απόκριση. Η χρήση των συμβιωτικών βελτιστοποιεί το εντερικό ανοσοποιητικό σύστημα και προάγει τον έλεγχο της μικροχλωρίδας, μειώνοντας τη συχνότητα εμφάνισης λοιμώξεων και αυξάνοντας τα κυκλοφορούντα λεμφοκύτταρα και τις κυτοκίνες, που διεγείρουν την φαγοκυττάρωση. Επίσης, αυξάνουν την απελευθέρωση υψηλών επιπέδων γαλακτικού οξέος και κατά συνέπεια προάγουν τη μείωση του PH του παχέος εντέρου. (Fooks L.J., Gibson G.R. 2002), (Saavedra JM. 2001).

Η δράση των μικροοργανισμών στα συμβιωτικά, κυρίως των bifidobacteria στον πεπτικό σωλήνα, επηρεάζει ευνοϊκά την ποσότητα, τη βιοδιαθεσιμότητα και την πεπτικότητα ορισμένων θρεπτικών ουσιών στη διατροφή. Αυτό συμβαίνει με διάφορους τρόπους όπως είναι για παράδειγμα, η μείωση του εντερικού PH με την παρουσία γαλακτικού σιδήρου στο έντερο. Επίσης, η απελευθέρωση διαφόρων ενζύμων στον εντερικό αυλό, από βακτήρια γαλακτικού οξέος, ώστε να ασκήσουν συνεργατικά αποτελέσματα στην πέψη, και με αυτόν τον τρόπο να ανακουφίσουν από τα συμπτώματα της ανεπαρκούς απορρόφησης διαφόρων θρεπτικών ουσιών, μεταξύ των οποίων είναι το ασβέστιο, το μαγνήσιο και ο σίδηρος (Saad SMI. 2006). Στις μέρες μας, διάφορες κλινικές δοκιμές βρίσκονται σε εξέλιξη, για τη συσχέτιση μεταξύ αυτών, και της πρόληψης διάφορων αλλεργικών διαταραχών και δυσανεξιών. Μια προοπτική, τυχαιοποιημένη, διπλή τυφλή

ελεγχόμενη μελέτη, συμπεριέλαβε 110 βρέφη με αλλεργία στο αγελαδινό γάλα καθ' όλη τη διάρκεια, τα οποία έλαβαν είτε αμινοξέα, είτε αμινοξέα μαζί με συνβιοτικά. Τα συνβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη δοκιμή συμπεριλάμβαναν το γένος *Bifidobacterium breve* M-16V, ολιγοφρουκτόζη, ινουλίνη μακράς αλυσίδας, καθώς και όξινους ολιγοσακχαρίτες (Burks AW, Harthoorn LF et al.2015). Με το πέρας της μελέτης αυτής, απεδείχθει ότι τα άτομα και από τα δύο σκέλη, είχαν παρόμοια και φυσιολογική ανάπτυξη, δίχως καμία εμφάνιση ανεπιθύμητων επιπλοκών (Burks AW, Harthoorn LF et al.2015).

Η χρήση συμβιωτικών, μεταξύ άλλων ωφελειών, μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των *bifidobacteria*, να συμβάλλει στη ρύθμιση του γλυκαιμικού προφίλ, καθώς και στη μείωση της χοληστερόλης στο αίμα. Επιπροσθέτως, συμβάλει στη σωστή ισορροπία της υγιούς εντερικής μικροχλωρίδας, η οποία βοηθά στη μείωση της δυσκοιλιότητας και της διάρροιας, βελτιώνοντας την εντερική διαπερατότητα και διεγείροντας το ανοσοποιητικό σύστημα (Willian M, Mabel A & Alberto B. 2006).

Συμπερασματικά των παραπάνω, τα μέχρι σήμερα δεδομένα για τον ρόλο των προβιοτικών και των πρεβιοτικών στην υγεία είναι ενθαρρυντικά, ωστόσο χρειάζονται περαιτέρω έρευνες. Η πιο μελετημένη επίδραση των προβιοτικών στην υγεία αποτελεί η προστασία έναντι της διάρροιας που προκαλείται είτε από την χρήση αντιβιοτικών, είτε από μόλυνση που οφείλεται σε παθογόνους μικροοργανισμούς. Από την άλλη πλευρά, τα πρεβιοτικά δρουν συνεργικά με τα προβιοτικά, αυξάνοντας την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών και πιθανόν να λειτουργούν αποτρεπτικά στην διαδικασία της καρκινογένεσης. Μερικά από τα ερωτήματα που μένει να απαντηθούν στο μέλλον αφορούν στην ποσότητα, στην αναλογία, στο είδος, αλλά και στον συνδυασμό των προβιοτικών και πρεβιοτικών που απαιτούνται, ώστε να επιτευχθούν τα μέγιστα οφέλη για την υγεία. (Willian M, Mabel A & Alberto B. 2006).

2.2.4 Μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων:

Η μεταμόσχευση του μικροβιώματος κοπράνων (Fecal Microbiota Transplantation – FMT), αναφέρεται στη μεταφορά μικροβιακών κοινοτήτων από έναν δότη σε έναν παραλήπτη. Η μέθοδος αυτή έχει χρησιμοποιηθεί περισσότερο σε ασθενείς οι οποίοι πάσχουν από εντεροκολίτιδα. (Van Nood E, Vrieze A, et al. Nieuwdorp 2013), (Youngster I, Russell GH, et al. 2014). Η μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων είναι εγκεκριμένη

από τον Οργανισμό Φαρμάκων και Τροφίμων (FDA) των Ηνωμένων Πολιτειών, μόνο για τη θεραπεία της υποτροπιάζουσας ή ανθεκτικής λοίμωξης από *Clostridium difficile*, ενώ οι περισσότερες θεραπείες για την ελκώδη κολίτιδα στοχεύουν περισσότερο στην ανοσολογική απόκριση και όχι στο μικροβίωμα του παχέος εντέρου. (Samuel P. Costello, Patrick A. Hughes, Oliver Waters, et al. 2019). Προηγούμενες μελέτες έχουν αξιολογήσει την αποτελεσματικότητα της μεταμόσχευσης μικροβιώματος κοπράνων για τη θεραπεία της ελκώδους κολίτιδας, με μικτά αποτελέσματα. Οι μελέτες αυτές χρησιμοποίησαν αερόβιες συνθήκες για την παρασκευή κοπράνων και παρήγαγαν μεγάλους μικροβιακούς πληθυσμούς. Ωστόσο, δεδομένου ότι τα περισσότερα είδη του μικροβιώματος του παχέος εντέρου είναι υποχρεωτικά αναερόβια, η έκθεση στο οξυγόνο κατά τη διάρκεια της παρασκευής θα μπορούσε να σκοτώσει τα μικροβιακά φύλα που καταστέλλουν τη φλεγμονή στην ελκώδη κολίτιδα (Samuel P. Costello, Patrick A. Hughes, Oliver Waters, et al. 2019).

Ομάδα επιστημόνων από το Πανεπιστήμιο της Αδελαΐδας της Αυστραλίας, έθεσε το ερώτημα για το αν θα μπορούσε η εφαρμογή πρωτοκόλλων μεταμόσχευσης κοπράνων με τη χρήση αναερόβιων μεθόδων επεξεργασίας, να ενισχύσει τη μικροβιακή βιωσιμότητα και να επιτύχει καλύτερα αποτελέσματα στην επίτευξη της ύφεσης των συμπτωμάτων στην ελκώδη κολίτιδα, με λιγότερο εντατική, συμβατική θεραπεία και προχώρησαν σε έρευνα, τα αποτελέσματα της οποίας δημοσιεύθηκαν τον Ιανουάριο του 2019 στο έγκριτο περιοδικό «*Journal of the American Medical Association*». (Samuel P. Costello, Patrick A. Hughes, Oliver Waters, et al. 2019). Στην έρευνα αυτή, συνολικά 73 ενήλικες με ήπια έως μέτρια ενεργό ελκώδη κολίτιδα συμμετείχαν σε πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλή τυφλή κλινική δοκιμή σε τρία τριτοβάθμια κέντρα παραπομπής στην Αυστραλία μεταξύ Ιουνίου 2013 και Ιουνίου 2016, με δωδεκάμηνη παρακολούθηση μέχρι τον Ιούνιο του 2017. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν ώστε να λάβουν μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων μέσω κολονοσκόπησης, είτε με αναερόβιας παρασκευασμένο εναιώρημα δοτών, είτε με αυτόλογη μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων, ακολουθούμενη από δύο υποκλυσμούς σε διάστημα επτά ημερών. Στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν αυτόλογη μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων προσφέρθηκε ανοιχτή θεραπεία στις οκτώ εβδομάδες και παρακολούθηθηκαν για διάστημα έως 12 μηνών. Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο ήταν η επίτευξη ύφεσης της ελκώδους κολίτιδας χωρίς στεροειδή, οριζόμενη ως συνολική βαθμολογία Mayo ≤ 2 , με ενδοσκοπική βαθμολογία Mayo 1 ή λιγότερη, την εβδομάδα οκτώ. Η συνολική βαθμολογία Mayo κυμαίνεται από 0 έως 12 (0=

όχι νόσος και 12= η πλέον σοβαρή νόσος). Η ύφεση της ελκώδους κολίτιδας χωρίς στεροειδή επαναξιολογήθηκε στους δώδεκα μήνες. (Samuel P. Costello, Patrick A. Hughes, Oliver Waters, et al. 2019). Από τους εβδομήνα τρεις ασθενείς που τυχαιοποιήθηκαν, οι εξήντα εννέα (ποσοστό 95%) ολοκλήρωσαν την μελέτη. Το πρωτογενές καταληκτικό αποτέλεσμα επετεύχθη σε δώδεκα από τους τριάντα οκτώ συμμετέχοντες (32%) που έλαβαν μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων από δότες, εν συγκρίσει με τρεις από τους τριάντα πέντε (9%) που έλαβαν αυτόλογη μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων. Οι πέντε από τους δώδεκα συμμετέχοντες (42%), στους οποίους επετεύχθη το πρωτεύον καταληκτικό σημείο την εβδομάδα οκτώ μετά από μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων από δότη, διατηρήθηκαν σε ύφεση έως και τους δώδεκα μήνες. Υπήρξαν τρεις συμμετέχοντες οι οποίοι εμφάνισαν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες στην ομάδα που υπεβλήθη σε μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων από δότες (επιδείνωση της κολίτιδας, κολεκτομή λόγω λοίμωξης από *C. difficile*, πνευμονία) και δύο, στην ομάδα της αυτόλογης μεταμόσχευσης μικροβιώματος κοπράνων (επιδείνωση της κολίτιδας). (Samuel P. Costello, Patrick A. Hughes, Oliver Waters, et al. 2019).

Συμπερασματικά τα αποτελέσματα αυτής της προκαταρκτικής μελέτης συνηγορούν στο ότι η θεραπεία μίας εβδομάδας με μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων από δότες, με τη χρήση αναερόβιων τεχνικών, είχε ως αποτέλεσμα υψηλότερη πιθανότητα ύφεσης της ήπιας έως μέτριας ελκώδους κολίτιδας στις οκτώ εβδομάδες, εν συγκρίσει με την αυτόλογη μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων. Ωστόσο η μελέτη αυτή, αν και αξιόλογη, έχει και κάποιους περιορισμούς, όπως το σχετικά μικρό δείγμα ασθενών, ο χαρακτήρας «μελέτης παρακολούθησης» που διαμορφώθηκε μετά τις οκτώ εβδομάδες και η απώλεια παρακολούθησης κάποιων ασθενών κατά τη διάρκεια της. Εξάλλου, όπως και οι ίδιοι οι ερευνητές αναφέρουν, πρόκειται για μία μελέτη «δημιουργίας υπόθεσης» και απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την εκτίμηση της μακροπρόθεσμης διατήρησης της ύφεσης και της ασφάλειας. (Samuel P. Costello, Patrick A. Hughes, Oliver Waters, et al. 2019).

Επιπλέον, διάφορα ευρήματα από μελέτες σε μοντέλα ποντικών, υποστηρίζουν ότι η μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων σε ποντίκια, μπορεί να είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος τροποποίησης και ύφεσης των συμπτωμάτων, σε διάφορες αλλεργικές διαταραχές. (Van Nood E, Vrieze A, et al. Nieuwdorp 2013), (Youngster I, Russell GH, et al. 2014). Όσον αφορά στον άνθρωπο, η μέθοδος αυτή είναι ακόμη υπό

δοκιμή. Πιο συγκεκριμένα, βρίσκονται σε εξέλιξη μελέτες ανοιχτής δοκιμής, για την αξιολόγηση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας, της από του στόματος χορήγησης-μεταμόσχευσης μικροβιώματος κοπράνων, για τη θεραπεία της αλλεργίας στα φιστίκια. Ωστόσο, έως ότου γίνουν περαιτέρω μελέτες και έρευνες σε αυτόν τον τομέα, θα παραμένουν ανοικτές σημαντικές ερωτήσεις σχετικά με την έγκυρη αποτελεσματικότητα της μεταμόσχευσης του μικροβιώματος κοπράνων, για τη θεραπεία των τροφικών αλλεργιών στον άνθρωπο. Είναι αναγκαίο να απαντηθούν τα ερωτήματα που αφορούν στο ποια είναι η βέλτιστη μικροβιακή κοινότητα προς μεταφορά, ποιος είναι ο καλύτερος και ο ασφαλέστερος τρόπος προς εγκατάσταση της μικροβιακής αυτής κοινότητας, καθώς και να εκτιμηθεί η συλλογική ασφάλεια της διαδικασίας, της μεταμόσχευσης του μικροβιώματος κοπράνων, σε ανθρώπινο επίπεδο. (Van Nood E, Vrieze A, et al. Nieuwdorp 2013), (Youngster I, Russell GH, et al. 2014). Οι πιθανοί τρόποι ‘χειρισμού’ του μικροβιώματος του εντέρου αποτυπώνονται συνοπτικά στην εικόνα που ακολουθεί (εικόνα 2), (Burks AW, Harthoorn LF et al.2015).

Πιθανοί τρόποι χειρισμού του μικροβιώματος του εντέρου. (εικόνα2)



(εικόνα 2) (Burks AW, Harthoorn LF et al.2015).

2.3 Παρουσίαση του εντερικού μικροβιώματος ως στόχο για καινοτόμες στρατηγικές κατά των τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών.

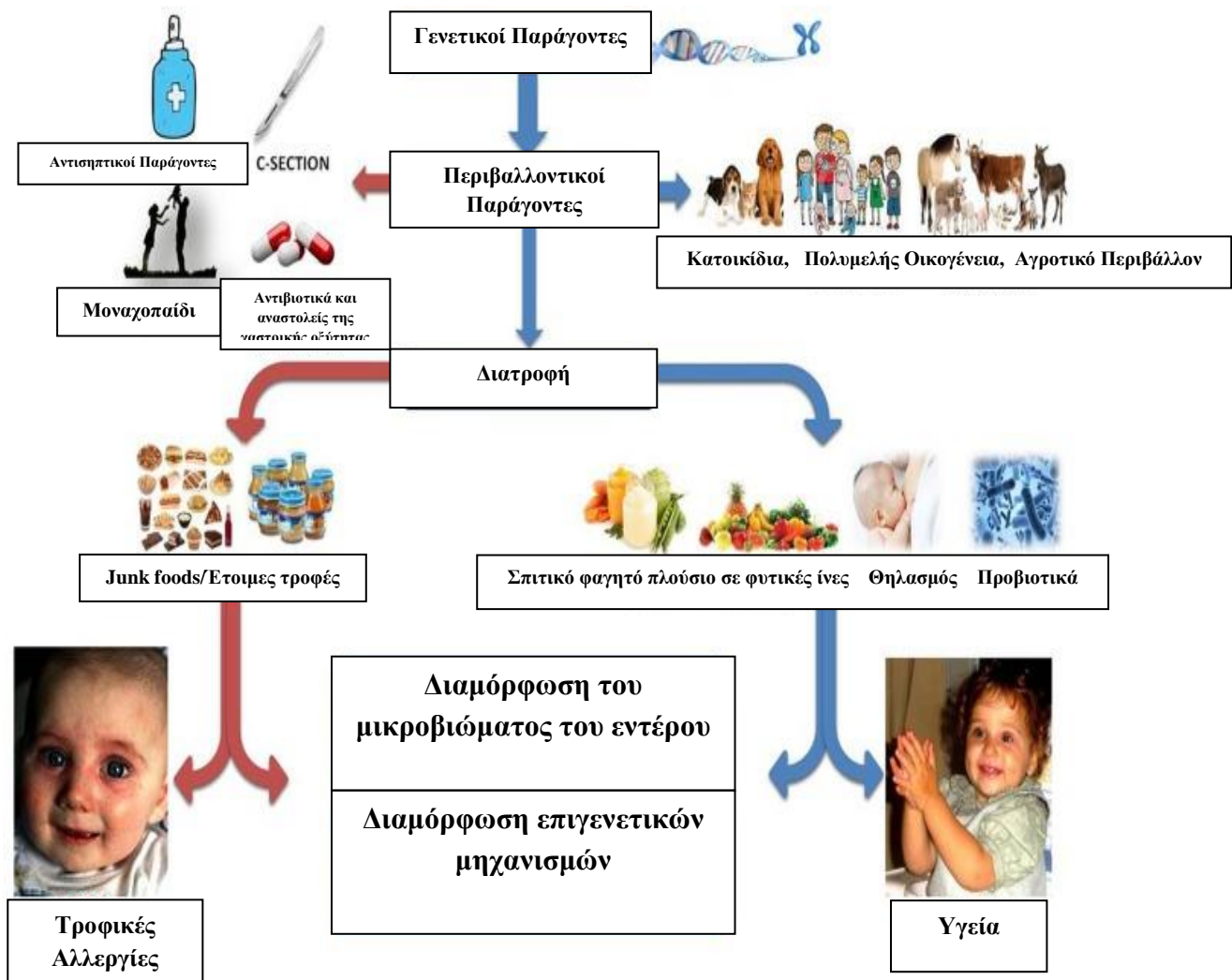
Η δραματική αύξηση του επιπολασμού της τροφικής αλλεργίας και της δυσανεξίας, καθώς και της σοβαρότητάς τους παγκοσμίως, απαιτεί αποτελεσματικές στρατηγικές αντιμετώπισής τους. Η τροφική αλλεργία προέρχεται από ένα 'ελάττωμα' στους μηχανισμούς άμυνας του ανοσολογικού συστήματος. Η ανοχή ανοσίας διαμορφώνεται από τη λειτουργία και τη δομή του μικροβιώματος του εντέρου, και οι μεταβολές στο εντερικό μικροβίωμα (δυσβολία) παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη της τροφικής αλλεργίας. Περιβαλλοντικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της δίαιτας με χαμηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες και λιπαρά, η καισαρική τομή, οι αντισηπτικοί παράγοντες, η έλλειψη θηλασμού καθώς και τα φάρμακα, μπορούν να προκαλέσουν δυσβίωση του μικροβιώματος του εντέρου και έχουν συσχετιστεί με τροφική αλλεργία. (Roberto Berni Canani, Lorella Paparo et al 2019).

Νέα πειραματικά εργαλεία και τεχνολογίες παρείχαν πληροφορίες σχετικά με το ρόλο των μεταβολιτών που παράγονται από διατροφικά θρεπτικά συστατικά και επιλεγμένα προβιοτικά στελέχη που θα μπορούσαν να συμβάλλουν βοηθητικά στους ανοσοποιητικούς μηχανισμούς ανοχής. Οι μηχανισμοί είναι πολλαπλοί, αλλά εξακολουθούν να μην είναι ακόμα πλήρως καθορισμένοι. Αυξανόμενες όμως ενδείξεις, παρείχαν χρήσιμες πληροφορίες για τα βέλτιστα φύλα και στελέχη βακτηρίων, καθώς και για τη δοσολογία και το χρόνο παρέμβασης. Η αυξημένη γνώση του κρίσιμου ρόλου που διαδραματίζουν οι θρεπτικές ουσίες και οι μεταβολίτες που προέρχονται από τα μικροβιώματα του εντέρου, ανοίγει το δρόμο για μια μεταβιοτική προσέγγιση, στη διέγερση της ανοσοποιητικής ανοχής μέσω της επιγενετικής ρύθμισης. Αυτή η κριτική επικεντρώθηκε στον πιθανό ρόλο του μικροβιώματος του εντέρου ως στόχου για καινοτόμες στρατηγικές κατά της τροφικής αλλεργίας και δυσανεξίας. (Roberto Berni Canani, Lorella Paparo et al 2019).

Η τροφική αλλεργία προέρχεται από τη διάσπαση της ανοσοποιητικής ανοχής στα διατροφικά αντιγόνα. Οι μηχανισμοί ανοχής ανοσίας περιελάμβαναν την ενεργοποίηση ειδικών ρυθμιστικών T κυττάρων-(Tregs). (Noval Rivas M, et al. 2013). Η τρέχουσα γνώση υποδηλώνει ότι η επιδημιολογία των τροφικών αλλεργιών μπορεί να επηρεάζεται από αλληλεπιδράσεις επιγονιδιώματος-γονιδιώματος-περιβάλλοντος που οδηγούν σε αλλοίωση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος (Paparo L, Aitoro R, et al. 2018). Για να σταθεροποιηθεί ή να μειωθεί ο επιπολασμός των τροφικών αλλεργιών,

απαιτούνται νέες και καινοτόμες στρατηγικές για τη μείωση της συχνότητάς τους. Πολλοί παράγοντες έχουν τεκμηριωθεί ότι συμβάλλουν στην εμφάνιση των τροφικών αλλεργιών. Οι πολλαπλοί αμετάβλητοι παράγοντες κινδύνου που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την εμφάνιση των τροφικών αλλεργιών περιλαμβάνουν το φύλο, την εθνικότητα (αυξημένος κίνδυνος μεταξύ παιδιών Ασίας και Αφροαμερικάνων) και γενετικούς παράγοντες (οικογενειακό ιστορικό, ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων (HLA), καθώς και συγκεκριμένα γονίδια (Loh W, Tang MLK. 2018), (Peters RL, Allen KJ et al.2015). Επιπλέον, υπάρχουν και άλλοι τροποποιησιμοι παράγοντες που μπορούν ενδεχομένως να στοχεύσουν στη μείωση ή στην πρόληψη των τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών. Αυτοί οι παράγοντες είναι το μητρικό γάλα, η χρήση αντιβιοτικών ή αναστολέων γαστρικής οξύτητας, η χρήση αντισηπτικών παραγόντων, η διαβίωση σε περιοχές αγροτικού περιβάλλοντος, η δίαιτα βασισμένη στο πρόχειρο φαγητό ή και η δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε ωφέλιμα λιπαρά και υψηλής περιεκτικότητας σε trans λιπαρά, η κατανάλωση μη παστεριωμένου γάλακτος ή ζυμωμένου γάλακτος, η έκθεση σε μη αποστειρωμένα κατοικίδια ζώα, η συνοδεία ατοπικής δερματίτιδας, ο χρόνος και τρόπος έκθεσης στα τρόφιμα, καθώς και η μεταχείριση αυτών, η μειωμένη κατανάλωση ωμέγα-3-πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, η ανεπάρκεια βιταμίνης D, κ.ο.κ. Όλα αυτά ασκούν επίδραση στην ανάπτυξη και στη λειτουργία του μικροβιώματος του εντέρου, όπως φαίνονται και στην εικόνα που ακολουθεί. (Loh W, Tang MLK. 2018), (Peters RL, Allen KJ et al.2015).

Οι παράγοντες οι οποίοι επιδρούν στο εντερικό μικροβίωμα και την εμφάνιση τροφικής αλλεργίας. (Εικόνα 3):



(εικόνα 3) (Loh W, Tang MLK. 2018), (Peters RL, Allen KJ et al.2015).

2.4 Τα χαρακτηριστικά του εντερικού μικροβιώματος στις τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες και η αντίχνευση του ρόλου του σε αυτές.

Η γνώση και η αναγνώριση του σημαντικού ρόλου που διαδραματίζει το μικροβίωμα του εντέρου στις μεταβολές και στην ισορροπία μεταξύ υγείας και αλλεργίας, αυξάνεται ραγδαία. Αυτό οφείλεται κυρίως στην πρόοδο της τεχνολογίας και στη διαθεσιμότητα μέσων υψηλής ευαισθησίας για τη μελέτη των μικροβιακών κοινοτήτων σε κάθε τύπο οικοσυστήματος. Είναι σημαντικό για τους ιατρούς και τους ερευνητές που είναι αφιερωμένοι στο πεδίο των τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών, να γνωρίζουν τις

δυνατότητες και τα όρια αυτών των τεχνολογιών για να κατανοήσουν καλύτερα την αξία και τη σημασία των ευρημάτων που αναφέρονται και ανευρίσκονται έως τώρα στη βιβλιογραφία. (Gilbert JA, Blaser MJ et al. 2018).

Λόγω της ισχύος των πληροφοριών που μας δίνει το DNA, μάθαμε πολλά για τη σύνθεση των μικροβιακών κοινοτήτων του εντέρου. Μέχρι τη δεκαετία του 1990, η γνώση του μικροβιώματος του εντέρου ήταν περιορισμένη επειδή η δομή του μικροβιώματος του εντέρου παρατηρήθηκε χρησιμοποιώντας μόνο βακτηριολογική καλλιέργεια. Την τελευταία όμως δεκαετία, η σύνθεση του μικροβιώματος του εντέρου περιγράφηκε με αλληλουχία επόμενης γενιάς '16S' ριβοσωματικών RNA γονιδίων. Αυτό αύξησε τον όγκο των πληροφοριών που μπορούν να ανακτηθούν μελετώντας γονιδιώματα από ανθρώπινα δείγματα, με την ικανότητα να παρατηρείται η αφθονία γονιδίων και πιθανών μεταβολικών οδών που χαρακτηρίζουν μια μικροβιακή κοινότητα. Το γεγονός αυτό, καθιστά δυνατό να περιγραφεί η ταξινομική σύνθεση των μικροβίων και επίσης να μελετηθούν οι πιθανές λειτουργίες σε ένα δεδομένο σύστημα. Ένα τέτοιο μεθοδολογικό υπόβαθρο είναι θεμελιώδες για τη διερεύνηση συσχετίσεων μεταξύ της δομής της υγείας και των μικροβίων, καθώς και άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων και επίσης για την παρακολούθηση των αλλαγών του μικροβιώματος του εντέρου ως απόκριση σε ασθένειες, αλλεργίες ή διαταραχές στη διατροφή ή τον τρόπο ζωής. (Gilbert JA, Blaser MJ et al. 2018). Παρ' όλα αυτά, τα μεταβολικά χαρακτηριστικά των μικροβίων του εντέρου μένουν ακόμη σε ένα μεγάλο βαθμό ανεξερεύνητα. Η μεταβολική μέθοδος, θα παράσχει σημαντικές ενδείξεις στην παθογένεση των διατροφικών αλλεργιών και δυσανεγιών. Υπό αυτό το πρίσμα, τα διαθέσιμα προκαταρκτικά δεδομένα για το προφίλ λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας (SCFA) ανοίγουν νέα προοπτική παρέμβασης. Αυτό που χρειάζεται είναι μια μετάβαση από την περιγραφική έρευνα στην κατανόηση των τρόπων με τους οποίους το μικρόβιο αλληλεπιδρά με τον ξενιστή και παίζει ρόλο στην υγεία και τις ασθένειες. Σε αυτό το πλαίσιο, οι ελεγχόμενες κλινικές παρεμβάσεις είναι υψίστης σημασίας για τη διαπίστωση της αιτιολογικής εμπλοκής των μικροβίων και αποτελούν τη βάση για την εφαρμογή προσεγγίσεων εξατομικευμένης ιατρικής (Bashiardes S, Godneva A, et al. 2018). Η μελέτη της σχέσης μεταξύ μικροβιώματος και τροφικών αλλεργιών μπορεί να ξεκινήσει ως συσχέτιση και να καταλήξει σε αιτία. (Berni Canani R, Sangwan N, et al. 2016). Εάν η ευρεία εξέταση περιελάμβανε ομάδες ασθενών με διαφορετικό διατροφικό στυλ ή εθνικότητα, οι κοινές μικροβιακές υπογραφές θα ήταν ακόμη ισχυρότερες και θα παρείχαν μια σταθερή ένδειξη των μικροβιακών βιοδεικτών των

τροφικών αλλεργιών. Περαιτέρω χαρτογράφηση των γονιδιωματικών χαρακτηριστικών που σχετίζονται με τροφικές αλλεργίες μπορεί να συναχθεί από μεταγονιδιωματικές και μεταβολικές έρευνες, οι οποίες μπορεί να παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τις λειτουργικές μικροβιακές δραστηριότητες που σχετίζονται με τις τροφικές αλλεργίες. (Berni Canani R, Sangwan N, et al.2016).

Παρατίθενται οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη διερεύνηση των μεταγονιδιωματικών και μεταβολικών χαρακτηριστικών των μικροβίων του εντέρου προς συσχέτισή τους με τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες:

Μεταγονιδιωματική Καλλιέργεια: Απομόνωση βακτηρίων σε επιλεκτικά μέσα

qPCR: Ενίσχυση και ποσοτικοποίηση 16S rRNA. Το μείγμα αντίδρασης περιέχει μια ένωση που φθορίζει όταν συνδέεται με δίκλωνο DNA.

DGGE / TGGE Gel: Διαχωρισμός 16S rRNA χρησιμοποιώντας μετουσιωτικό / θερμοκρασία.

T-RFLP: Ενισχυμένοι με φθορισμό εναρκτήρες ενισχύονται και στη συνέχεια χρησιμοποιούνται ένζυμα περιορισμού για την πέψη του 16S rRNA.

Μικροσυστοιχίες DNA: Επισημασμένοι με φθορισμό ανιχνευτές ολιγονουκλεοτιδίων υβριδίζονται με συμπληρωματικές αλληλουχίες νουκλεοτιδίων. Ο φθορισμός ανιχνεύθηκε με λείζερ.

Κλωνοποιημένη αλληλουχία 16S rRNA γονιδίου: Κλωνοποίηση πλήρους μήκους 16S rRNA.

Άμεση αλληλούχιση των 16S rRNA: Μαζική παράλληλη αλληλουχία των 16S rRNA amplicons. Γίνεται ανάλυση.

Φασματομετρία μάζας αερίου χρωματογραφίας (GC-MS): Οι θερμικά σταθερές και πτητικές ενώσεις διαχωρίζονται με και οι εκλούμενοι μεταβολίτες ανιχνεύονται με φασματόμετρα μάζας ηλεκτρονικής κρούσης.

Φασματομετρία μάζας υγρής χρωματογραφίας (LC): Επιτρέπει τον διαχωρισμό ενώσεων με λίγη προσπάθεια σε μερικά στάδια πριν από την ανάλυση (σε σύγκριση με το GC-MS). Ο διαχωρισμός του μεταβολίτη που λαμβάνεται με ακολουθείται από ιονισμό ηλεκτρο ψεκασμού (ESI) ή ατμοσφαιρικό χημικό ιονισμό υπό πίεση (APCI).

Φασματομετρία μάζας τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης (CE): Προσφέρει ανάλυση υψηλής ανάλυσης και ανιχνεύει ένα ευρύτερο φάσμα (πολικών) ενώσεων σε σύγκριση με την HPLC.

Φασματοσκοπία υπερύθρων Fourier Transform (FTIR): Επιτρέπει τον γρήγορο, μη καταστρεπτικό και υψηλής απόδοσης προσδιορισμό διαφορετικών τύπων δειγμάτων. Αυτή η τεχνική επιτρέπει την ανίχνευση διαφορετικών μορίων, όπως λιπίδια και λιπαρά οξέα (FAs), πρωτεΐνες, πεπτίδια, υδατάνθρακες, πολυσακχαρίτες, νουκλεϊκά οξέα.

Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού: Χρησιμοποιεί το ενδομοριακό μαγνητικό πεδίο γύρω από τα άτομα σε μόρια για να αλλάξει τη συχνότητα συντονισμού, επιτρέποντας έτσι την πρόσβαση σε λεπτομέρειες της ηλεκτρονικής δομής των μορίων και τη λήψη πληροφοριών σχετικά με τη δυναμική, την κατάσταση αντίδρασης και το χημικό περιβάλλον τους. (Berni Canani R, Sangwan N, et al. 2016).

2.5 Η κλινική συσχέτιση της δυσβίωσης του εντερικού μικροβιώματος με διάφορες ασθένειες, σε παιδιά με τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες.

Πολλά θέματα τροφικών αλλεργιών μας απασχολούν με την πάροδο του χρόνου. Η αλλεργία στο αγελαδινό γάλα, η αλλεργία στα αυγά της κότας και η αλλεργία στο σιτάρι υποχωρούν στο ~ 50% των παιδιών μέχρι την ηλικία των 5 έως 10 ετών. Άλλα, κάποιες τροφικές αλλεργίες (συμπεριλαμβανομένων αυτών των φυτικών, των ξηρών καρπών και των ψαριών) έχουν χαμηλό ρυθμό υποχώρησης και θεωρούνται ανθεκτικές (Savage J, Sicherer S, et al. 2016). Επιπλέον, πολλές μορφές τροφικών αλλεργιών, μπορεί να σχετίζονται με τη μετέπειτα ανάπτυξη άλλων αλλεργικών εκδηλώσεων όπως είναι η οφθαλμινίτιδα, η ατοπική δερματίτιδα, το άσθμα και η κνίδωση (η λεγόμενη «Atopic March»), (Hill DA, Spergel JM. 2018), καθώς και άλλες ασθένειες όπως γαστρεντερικές διαταραχές, φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου και ψυχιατρικές διαταραχές, όπως διαταραχές του αυτιστικού φάσματος (ASD) διαταραχή υπερκινητικότητας, έλλειψης προσοχής (ΔΕΠΥ) και ιδεοψυχαναγκαστική διαταραχή (OCD) (Virta LJ, Kautiainen H, et al. 2016), (Topal E, Catal F, et al. 2016). Η παθογένεση αυτών των γεγονότων είναι ακόμη σε μεγάλο βαθμό άγνωστη, αλλά αυξανόμενες ενδείξεις υποδηλώνουν την υπόθεση ότι η διαταραχή του μικροβιώματος του εντέρου, που οδηγεί σε αλλοιώσεις του ανοσοποιητικού συστήματος και του άξονα του εγκεφάλου του εντέρου, θα μπορούσε να επηρεάσει την

εμφάνιση καταστάσεων τροφικών αλλεργιών που σχετίζονται με την ποιότητα διαβίωσης αργότερα στη ζωή. (Virta LJ, Kautiainen H, et al. 2016), (Topal E, Catal F, et al. 2016).

Τα παιδιά με τροφικές αλλεργίες παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν και άλλες καταστάσεις όπως είναι, αλλεργικές διαταραχές, φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου, λειτουργικές γαστρεντερικές διαταραχές και νευροψυχιατρικές διαταραχές. Αρκετοί γενετικοί παράγοντες εμπλέκονται στην παθογένεση αυτών των καταστάσεων, αλλά πρόσφατες ενδείξεις δείχνουν τον κεντρικό ρόλο της δυσβολίας του μικροβιώματος του εντέρου (που προκαλείται από περιβαλλοντικούς παράγοντες). Αυξανόμενες ενδείξεις υποστηρίζουν την υπόθεση της δυσβολίας ως το ‘πρώτο χτύπημα’ στην ανάπτυξη των αλλοιώσεων στον εντερικό φραγμό και στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος (υπεύθυνη για την εμφάνιση τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών) καθώς και τη δυσρύθμιση του άξονα ενδοκρινικού-ανοσοποιητικού συστήματος και εγκεφάλου-εντέρου (υπεύθυνος για την εμφάνιση των προαναφερθέντων νόσων και νευροψυχιατρικών διαταραχών), τουλάχιστον εν μέρει, μέσω ενεργοποίησης επιγενετικών μηχανισμών. (Roberto B. C., Lorella P. et al. 2019).

2.6 Η σημασία του άξονα εντερικού μικροβιώματος-διατροφής-αλλεργιών και δυσανεξιών.

Η σημασία του άξονα εντερικού μικροβιώματος-διατροφής-αλλεργιών και δυσανεξιών, ξεκινά κιόλας από την παιδική ηλικία. Όπως έχει προαναφερθεί, η διατροφή από τη σύλληψη κιόλας (μητρική διατροφή) έως τους πρώτους 24 μήνες της ηλικίας (παιδική διατροφή), μπορεί να επηρεάσει τον κίνδυνο ανάπτυξης τροφικών αλλεργιών. Μια πρόσφατη μελέτη δείχνει ότι μια υγιεινή διατροφή με υψηλά επίπεδα φρούτων, λαχανικών και σπιτικών τροφίμων (όχι πρόχειρο-έτοιμο φαγητό) σχετίζεται με μικρότερο ποσοστό εμφάνισης τροφικών αλλεργιών έως την ηλικία των 24 μηνών. Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει ότι τα θρεπτικά συστατικά επηρεάζουν το μικροβίωμα του εντέρου καθώς και την παραγωγή βακτηριακών μεταβολιτών (Rooks MG, Garrett W. 2016), (Ma N, Guo P, et al. 2018). Ιδιαίτερος, αξίζει να σημειωθεί το βουτυρικό οξύ, το οποίο ασκεί καθοριστικό ρόλο στην επαγωγή ανοχής ανοσίας σε τροφικές αλλεργίες. Το βουτυρικό οξύ προάγει τη διαφοροποίηση των Β κυττάρων και αυξάνει την παραγωγή ανοσοσφαιρινών IgA και IgG (Kim M, Qie Y, et al. 2016). Μάλιστα, έχει παρατηρηθεί ανεπάρκεια βουτυρικού οξέως σε παιδιά με διάφορες αλλεργίες. (Kim M, Qie Y, et al. 2016). Τα λιπαρά οξέα βραχέας

αλύσου 'SCFA's' που παράγονται από βακτήρια, έχουν μελετηθεί και αποδειχθεί ευεργετικά στην αντιμετώπιση των τροφικών αλλεργιών. Αυτό έχει αποδοθεί ειδικά στην παραγωγή βουτυρικού οξέως από τα Clostridiales τα οποία σχηματίζουν σπόρια. Συνολικά, αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν το δυναμικό μιας «μεταβιοτικής» προσέγγισης, με βάση τη χρήση των λιπαρών οξέων βραχέας αλύσου SCFAs κατά των τροφικών αλλεργιών. Υπό αυτό το πρίσμα, εργαστηριακά δεδομένα έδειξαν ότι το βουτυρικό οξύ με χρήση από του στόματος, προκαλεί δραματική αναστολή της οξείας αλλεργικής απόκρισης του δέρματος, βαθμιαία εξάλειψη αναφυλακτικών συμπτωμάτων, μείωση της θερμοκρασίας του σώματος και αύξηση της διαπερατότητας του εντέρου. Η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο τα θρεπτικά συστατικά και οι μεταβολίτες τους, μαζί με τη διατροφή, θα μπορούσαν να επηρεάσουν τις κοινότητες των βακτηρίων του εντέρου και το ανοσοποιητικό σύστημα, θα συμβάλει στη δημιουργία μιας ιατρικής προσέγγισης ακριβείας για τη φροντίδα των τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών. Προχωρώντας προς ένα 'φάρμακο ακριβείας' με βάση το μικροβίωμα του εντέρου ενάντια στην τροφική αλλεργία, πλησιάζουμε σε μια εποχή όπου η μεταγονιδιωματική και μεταβολική αξιολόγηση του μικροβιώματος του εντέρου σε παιδιά που κινδυνεύουν από τροφικές αλλεργίες θα οδηγήσει σε εξατομικευμένη παρέμβαση για να διατηρήσει ή να αποκαταστήσει μια κατάσταση «ευ-βίωσης» βασισμένη σε διατροφικές συμβουλές και σε εκπαιδευτικά προγράμματα. (Di Costanzo M, Paparo L. Et al. 2014).

2.6.1 Ο τρόπος με τον οποίο η Μεσογειακή Διατροφή επηρεάζει τις διατροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες, μέσω του εντερικού μικροβιώματος.

Η μεσογειακή διατροφή ορίζεται ως μια υγιεινή ισορροπημένη διατροφή. Χαρακτηρίζεται από υψηλή κατανάλωση ανάμεικτων δημητριακών, οσπρίων, φρούτων, λαχανικών, ελαιόλαδου και ξηρών καρπών, καθώς επίσης από μέτρια κατανάλωση κόκκινου κρασιού, πουλερικών και ψαριών και χαμηλότερη πρόσληψη κόκκινου κρέατος και γλυκών. Η μεσογειακή διατροφή κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και της πρώιμης ζωής έχει αποδειχθεί ότι ασκεί προστατευτικό ρόλο έναντι των αλλεργικών νόσων στα παιδιά (Castro-Rodriguez JA, Garcia-Marcos L. 2017). Αυτά τα αποτελέσματα προέρχονται από την υψηλή πρόσληψη μη εύπεπτων διατροφικών ινών (φυτικών ινών), το ευεργετικό προφίλ των λιπαρών οξέων που είναι πλούσιο σε ωμέγα-3 λιπαρά οξέα, τα υψηλά επίπεδα πολυφαινολών και άλλων αντιοξειδωτικών, τα οποία και χαρακτηρίζουν τη Μεσογειακή

διατροφή. Οι μη εύπεπτοι διατροφικοί υδατάνθρακες-φυτικές ίνες, αντιπροσωπεύουν την κύρια πηγή θρεπτικών ουσιών για τα βακτήρια του εντέρου και η ζύμωσή τους οδηγεί στην παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου SCFAs. Έχει αποδειχθεί ότι μειωμένη διαθεσιμότητα φυτικών ινών στον οργανισμό, μείωσε τη συγκέντρωση των βακτηρίων που αποικοδομούν τις ίνες και αύξησε τα βακτήρια που αποικοδομούν τη βλεννίνη (Berni Canani R, Costanzo MD, et al 2011), (Desai MS, Seekatz AM, et al.2016). Η υιοθέτηση της Μεσογειακής Διατροφής έχει συσχετιστεί με αυξημένα επίπεδα βακτηρίων Prevotella και Firmicutes καθώς και αυξημένης παραγωγής λιπιδίων βραχείας αλύσου SCFAs. Οι ανοσορρυθμιστικοί μηχανισμοί που προκαλούνται από τα τριγλυκερίδια βραχείας αλύσου SCFAs αντιπροσωπεύουν μια από τις ισχυρότερες συνδέσεις μεταξύ της διατροφής, του μικροβιώματος του εντέρου και των αλλεργικών ασθενειών (McKenzie C, Tan J, et al.2017). Τα βακτήρια που παράγουν λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου SCFA αντιπροσωπεύουν μια λειτουργική ομάδα, συμπεριλαμβανομένων των Faecalibacterium prausnitzii και Eubacterium rektal ή Roseburia και είναι αποτελεσματικοί παραγωγοί βουτυρικού οξέος. Τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου SCFAs αποτελούν σημαντική πηγή ενέργειας για τα κολονοκύτταρα και επηρεάζουν επιγενετικά αρκετές λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος (μακροφάγα, ουδετερόφιλα, δενδριτικά κύτταρα, φαγοκύτταρα T και B) που εμπλέκονται στο δίκτυο ανοχής στις διάφορες αλλεργίες και δυσανεξίες. (Schauber J, Svanholm C, et al. 2003), (Fontenelle B, Gilbert KM.et al. 2012).

Συμπεράσματα κεφαλαίου:

Συνοψίζοντας, παρατηρούνται τα ευρήματα ότι τα μικροβιώματα του εντέρου μπορούν να ρυθμίσουν την ευαισθησία στις τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες, υποδηλώνοντας την πιθανή θεραπευτική χρησιμότητά τους προς όφελος του ξενιστή. (GUEIMONDE M, COLLADO MC 2012). Αυτός είναι ένας τομέας μεγάλου ενδιαφέροντος, λαμβάνοντας υπόψη τα πιθανά οφέλη και τις πιθανές ευκαιρίες για τη διαμόρφωση και την ανάπτυξη των θεραπευτικών μεθόδων απέναντι των τροφικών αλλεργιών και δυσανεξιών, μιας και τις τελευταίες δεκαετίες, ο επιπολασμός τους έχει αυξηθεί με γρήγορο ρυθμό. (Feehley T, Stefka AT, et al. 2012). Οι πιθανοί τρόποι ‘χειρισμού’ του μικροβιώματος του εντέρου συνοπτικά, περιλαμβάνουν τα προβιοτικά, τα πρεβιοτικά, τα συνβιοτικά και τη μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων, με αρχικό και βασικό άξονα πάντα τη διατροφή. (Burks AW, Harthoorn LF et al.2015). Στο κεφάλαιο που ακολουθεί, μελετάται εκτενέστερα ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στις διάφορες τροφικές δυσανεξίες και

αναγνωρίζεται το γεγονός ότι το εντερικό μικροβίωμα παίζει σημαντικό, έως και καταλυτικό, ρόλο στην πορεία των τροφικών δυσανεξιών. Συγκεκριμένα, μελετώνται η δυσανεξία στη λακτόζη, η δυσανεξία στη γλουτένη-κοιλιοκάκη, οι Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσοι του Εντέρου, καθώς και η προερχόμενη από τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα δυσανεξία στη γλυκόζη.

Κεφάλαιο 3: Εστιάζοντας στη συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με τις διάφορες τροφικές δυσανεξίες.

3.1 Εντερικό μικροβίωμα και δυσανεξία στη λακτόζη.

Η δυσανεξία στη λακτόζη είναι η συνηθέστερη τροφική δυσανεξία, η οποία οφείλεται στην αδυναμία του οργανισμού να διασπά τη λακτόζη, ελλείψη ή δυσλειτουργικότητας του ενζύμου λακτάση. (Wood RA, Sicherer SH, et al. 2013). Πιο συγκεκριμένα, δυσανεξία στη λακτόζη είναι η μειωμένη ικανότητα διάσπασης της λακτόζης σε γλυκόζη και σε γαλακτόζη λόγω έλλειψης του ενζύμου λακτάση. Η περιορισμένη αυτή ικανότητα πέψης της λακτόζης εμφανίζεται όταν το ένζυμο της εντερικής λακτάσης μειώνεται στο περίγραμμα των λαχνών του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου. Η συχνότητα της δυσανεξίας στη λακτόζη αυξάνεται με την ηλικία και εκδηλώνεται με συμπτώματα όπως διάρροια, κοιλιακό άλγος, κράμπες και φούσκωμα. Τα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη διατρέχουν κίνδυνο εμφάνισης σοβαρών αλλεργικών αντιδράσεων, αντιμετωπίζοντας παράλληλα προκλήσεις όσον αφορά την εύρεση κατάλληλων διατροφικών επιλογών ώστε να μπορέσουν να προσλάβουν το αντίστοιχο θρεπτικό περιεχόμενο, που παρέχουν τα προϊόντα με βάση το γάλα. (Fleischer DM, Perry TT, et al. 2012). Ένα παιδί μπορεί να χρειαστεί να ζήσει με τους περιορισμούς που του επιβάλλει η δυσανεξία στη λακτόζη για αρκετά χρόνια, καθώς πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η δυσανεξία στη λακτόζη μπορεί να συνεχιστεί και σε μεταγενέστερη παιδική ηλικία, καθώς επίσης και στην ενηλικίωση. (M. Andrea Azcarate-Peril, Andrew J. et al. 2017).

Από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, έχει αποδειχθεί ότι η πρόσληψη προβιοτικών όπως είναι τα στελέχη *Lactobacillus bulgaricus* και *Streptococcus thermophiles*, συμβάλλουν

θετικά στην αντιμετώπιση της διαταραχής, βοηθώντας στην ανακούφιση των συμπτωμάτων, καθώς και στην καλύτερη πέψη του γάλακτος. (Round JL, Mazmanian SK. 2009). Οι μικροβιακές τάξεις των Clostridia και Firmicutes θα μπορούσαν επίσης να μελετηθούν ως προβιοτικά υποψήφια για τη θεραπεία της δυσανεξίας στη λακτόζη. Πιο συγκεκριμένα, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής από το Consortium of Food Allergy Research (CoFAR), με συμμετέχοντες 226 βρέφη με δυσανεξία στη λακτόζη, ηλικίας 3 έως 15 μηνών, παρακολούθηθηκε με την πάροδο του χρόνου και μελετήθηκε διεξοδικά το εντερικό τους μικροβίωμα. Στη συνέχεια, εξετάστηκε η συσχέτιση μεταξύ της ποικιλομορφίας και της σύνθεσης του εντερικού τους μικροβιώματος, με την πιθανή εξασθένιση των συμπτωμάτων της δυσανεξίας στη λακτόζη. Στην έρευνα αυτή, παρατηρήθηκε ότι το μικροβίωμα του εντέρου παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσική εξέλιξη της δυσανεξίας στη λακτόζη. Το γεγονός αυτό, μπορεί να οφείλεται τόσο στη διατροφή, όσο και στα ίδια τα βακτήρια του εντέρου και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Με το πέρας της έρευνας, διαπιστώθηκε ότι με τον εμπλουτισμό των γενών Clostridia και Firmicutes στο εντερικό μικροβίωμα των πασχόντων, φαίνεται να ανακουφίζονται, ακόμη και να εξασθενούν σημαντικά, τα συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη. (Round JL, Mazmanian SK. 2009), (Berin MC, Sampson HA. 2013), (Wood RA, Sicherer SH, Vickery BP, et al 2013).

3.1.1 Ο σημαντικός ρόλος των ολιγοσακχαριτών υψηλής καθαρότητας ‘GOS’ στο εντερικό μικροβίωμα ατόμων με δυσανεξία στη λακτόζη.

Οι γαλακτοολιγοσακχαρίτες (Galactooligosaccharides, GOS) είναι συστατικά διαφόρων τροφίμων τα οποία έχουν ως βάση τους υδατάνθρακες και ανήκουν στην ομάδα των πρεβιοτικών. Στο παρελθόν, οι GOS είχαν χαρακτηριστεί ως συστατικά τροφίμων ελάχιστης σημασίας λόγω της χαμηλής τους γλυκύτητας, της χαμηλής διαλυτότητάς τους στο νερό καθώς και της χαμηλής πεπτικότητάς τους. Στη σημερινή όμως εποχή, έχει αποδειχθεί ότι οι GOS μπορούν να διεγείρουν επιλεκτικά τα ευεργετικά βακτήρια που αναπτύσσονται στο κάτω μέρος του ανθρώπινου εντέρου. Οι ολιγοσακχαρίτες GOS συντίθενται από δύο κύριες πηγές οι οποίες είναι η σόγια και η λακτόζη. Οι GOS που συντίθεται από λακτόζη, μοιάζουν με τους ολιγοσακχαρίτες που υπάρχουν φυσικά στο ανθρώπινο μητρικό γάλα, επομένως η κύρια χρήση τους στηρίζεται στην προσθήκη τους σε βρεφικές και σε παιδικές τροφές. Το ενδιαφέρον που εμφανίζουν οι GOS σχετίζεται με το γεγονός ότι πρόκειται για ολιγοσακχαρίτες με βάση τη γαλακτόζη, καθώς επίσης και το

ότι παρουσιάζουν δομικές ομοιότητες με τους ολιγοσακχαρίτες που συναντώνται στο ανθρώπινο μητρικό γάλα (Human Milk Oligosaccharides, HMOs). Οι GOS παρέχουν διάφορα οφέλη στην υγεία του ανθρώπου, μέσω δύο κύριων μηχανισμών. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι ο επιλεκτικός πολλαπλασιασμός των ευεργετικών βακτηρίων της εντερικής μικροχλωρίδας καθώς και η παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (Short Chain Fatty Acids – SCFAs). Με τον πρώτο μηχανισμό, δηλαδή τον επιλεκτικό αυτό πολλαπλασιασμό των βακτηρίων, κυρίως του γένους των Bifidobacteria και Lactobacilli, δημιουργείται αντίσταση κατά της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών, μειώνονται οι εξωγενείς και οι ενδογενείς εντερικές λοιμώξεις, ρυθμίζεται το ανοσοποιητικό σύστημα και καταστέλλεται η φλεγμονή του εντέρου. Με τον δεύτερο μηχανισμό, ο μεταβολισμός των GOS οδηγεί στην παραγωγή SCFAs, τα οποία παρουσιάζουν διάφορα ευεργετικά αποτελέσματα στον οργανισμό, όπως είναι η μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου, η αύξηση απορρόφησης των μετάλλων, η βελτίωση της λειτουργίας του εντέρου αλλά και ο έλεγχος των επιπέδων των λιπιδίων του αίματος. (Schaafsma G. 2008).

Σε κλινικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν, απεδείχθει ότι η χορήγηση γαλακτοολιγοσακχαρίτη υψηλής καθαρότητας (GOS) θα μπορούσε να βελτιώσει τα συμπτώματα των ατόμων με δυσανεξία στη λακτόζη, επιτυγχάνοντας μεγαλύτερη ανοχή της λακτόζη στα άτομα αυτά. (Savaiano DA, et al. 2013). Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε, προκειμένου να διερευνηθεί ο μηχανισμός αυτός, εξετάστηκε το μικροβίωμα ανθρώπων πριν και μετά τη χορήγηση του γαλακτοολιγοσακχαρίτη υψηλής καθαρότητας ‘GOS’. Η μελέτη ήταν μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε δύο τοποθεσίες στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Για το σκοπό αυτό, επιλέχθηκαν 395 άτομα τα οποία αρχικά υποβλήθηκαν σε αξιολογήσεις και εξετάσεις. Από αυτά, τα 85 τυχαιοποιήθηκαν, όπου τα 57 έλαβαν σκεύασμα GOS (RP-G28) και τα υπόλοιπα 28 έλαβαν κάποιο εικονικό φάρμακο. Στον τυχαιοποιημένο πληθυσμό, η μέση ηλικία ήταν 41 ετών και ο μέσος Δείκτης Μάζας Σώματος ήταν 27,1kg/m². Δεν υπήρχαν εμφανείς διαφορές στις δύο ομάδες θεραπείας. Όλοι οι συμμετέχοντες είχαν ένα αυτοαναφερόμενο ιστορικό δυσανεξίας στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Τα συμπτώματα δυσανεξίας στη λακτόζη (κοιλιακός πόνος, μετεωρισμός, κράμπες, φούσκωμα και διάρροια) μετρήθηκαν και αξιολογήθηκαν μέσω της κλίμακας Likert, τα οποία αναφέρθηκαν από τους ασθενείς εφόσον είχε προηγηθεί σε αυτούς χορήγηση 25 gr λακτόζης. Τα άτομα απαιτήθηκε να δείξουν μία ελάχιστη εμφάνιση συμπτωμάτων στη χορήγηση της λακτόζης, ώστε να είναι επιλέξιμα για την τυχαιοποίηση.

Κατά τη διάρκεια της κλινικής δοκιμής, οι συμμετέχοντες απέφυγαν τη λακτόζη στη διατροφή τους και λάμβαναν κλιμακωτές δόσεις του ολιγοσακχαρίτη υψηλής καθαρότητας (> 95%) GOS, η πρώτη ομάδα, και αντιστοίχως του εικονικού φαρμάκου (Sweetose), η δεύτερη ομάδα. Η χορήγηση πραγματοποιήθηκε σε βήματα σύμφωνα με ένα σταθερό πρόγραμμα, ξεκινώντας από 1,5g ανά ημέρα, του αντίστοιχου σκευάσματος, φτάνοντας τα 15g, του ίδιου σκευάσματος, ανά ημέρα. Την 36^η ημέρα, η θεραπεία σταμάτησε και τα άτομα ενθαρρύνθηκαν να καταναλώνουν λακτόζη και γαλακτοκομικά προϊόντα μέχρι και την 66^η ημέρα. Έπειτα συλλέχθηκαν τα δείγματα από τα άτομα (GOS και εικονικό φάρμακο). Στη συνέχεια έγιναν οι μετρήσεις στο τέλος της θεραπείας, καθώς και για 30 ακόμη ημέρες μετά τη θεραπεία, για την αξιολόγηση των αλλαγών τους ως προς την πέψη της λακτόζης καθώς και ως προς την ένταση των συμπτωμάτων τους, σε σχέση με την έναρξη. Τα αποτελέσματα έδειξαν μία σημαντική αύξηση του μικροβιώματος ζύμωσης της λακτόζης στα κόπρανα των ατόμων που λάμβαναν GOS, με παράλληλη ανακούφιση των συμπτωμάτων. Το μικροβίωμα αυτό περιελάμβανε κυρίως γαλακτοβάκιλλους και bifidobacteria, καθώς και άλλα μικροβιακά μέλη της εντερικής κοινότητας. Επομένως, ο γαλακτοολιγοσακχαρίτης υψηλής καθαρότητας GOS, είχε ως αποτέλεσμα να επιφέρει προσαρμοστικές αλλαγές στο εντερικό μικροβίωμα, καθώς επίσης συσχετίστηκε θετικά ως προς τη βελτίωση στα κλινικά συμπτώματα της δυσανεξίας της λακτόζης. Μετά από 36 ημέρες σίτισης με προσθήκη του ολιγοσακχαρίτη GOS, καθώς και για επιπλέον 30 ημέρες μετά τη θεραπεία, τα άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη φαίνεται να παρουσιάζουν συνολική βελτίωση των συμπτωμάτων τους. Τέλος, τα άτομα όπου τους χορηγήθηκε το σκεύασμα GOS ήταν έξι φορές πιο πιθανό από τα άτομα ελέγχου, να ισχυριστούν ότι ήταν ανθεκτικά πλέον στη λακτόζη, εφόσον τα γαλακτοκομικά τρόφιμα είχαν επανεισαχθεί στις δίαιτές τους μετά τη θεραπεία. (M. Andrea Azcarate-Peril, Andrew J. et al. 2017).

3.1.2 Οι επιδράσεις του *Bifidobacterium longum* και του *Lactobacillus rhamnosus* στο εντερικό μικροβίωμα ασθενών με δυσανεξία στη λακτόζη.

Τα *Bifidobacterium* ανήκουν στη φυσική εντερική χλωρίδα των ανθρώπων και των ζώων και είναι αναερόβια Gram+ βακτήρια τα οποία αρχικά κατατάσσονταν στα είδη των λακτοβακίλλων. Με την εφαρμογή τεχνικών μοριακής ταξινόμησης διαχωρίστηκαν από τους λακτοβάκιλλους, διότι διαφέρουν ως προς το υψηλότερο ποσοστό βάσεων που έχουν στο DNA τους. Αναπτύσσονται σε θερμοκρασία μεταξύ 20 και 46 °C. Το βέλτιστο pH για την ανάπτυξή τους είναι μεταξύ 6,5 και 7,0. Είναι ετεροζυμωτικά βακτήρια και ζυμώνουν

τη γλυκόζη προς παραγωγή γαλακτικού οξέως καθώς και οξικού οξέος. Τα *Bifidobacterium* περιλαμβάνουν περισσότερα από 30 φύλα, τα οποία έχουν εντοπιστεί σε διάφορες πηγές όπως είναι ο άνθρωπος, τα ζώα, το περιβάλλον κ.α. Τα φύλα των *bifidobacterium* που βρίσκονται στην εντερική χλωρίδα του ανθρώπου είναι τα *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis* και *Bifidobacterium pseudocatenulatum* (Adolfsson O., Meydani S.N., et al. 2004), με το είδος *Bifidobacterium longum* συγκεκριμένα, να φαίνεται πως βοηθά σημαντικά στην αντιμετώπιση της δυσανεξία στη λακτόζη. (Paola Vitellio, Giuseppe Celano, et al. 2019).

Το γένος *Lactobacillus* αποτελείται από περίπου 50 φύλα, τα οποία μπορούν να αναπτυχθούν στα γαλακτοκομικά προϊόντα, στα προϊόντα δημητριακών κρέατος και ψαριών, στη μπίρα, στο κρασί, στα φρούτα, στα τουρσιά λαχανικών, καθώς μπορούν επίσης να βρεθούν στο χορτάρι, στη μαγιά και στο νερό. Οι λακτοβάκιλλοι είναι αποκλειστικά ζυμωτικοί οργανισμοί. Είναι ανθεκτικοί στο όξινο περιβάλλον και τροποποιούν το pH των τροφίμων που περιέχουν ζυμώσιμους υδατάνθρακες, στην όξινη περιοχή. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να μπορούν αναστέλλουν ή και να εξοντώνουν άλλα βακτήρια. Οι λακτοβάκιλλοι χωρίζονται σε υποχρεωτικά ομοζυμωτικούς, σε προαιρετικά ομοζυμωτικούς και σε υποχρεωτικά ετεροζυμωτικούς, με κριτήριο το χαρακτήρα της ζύμωσης. Ο *Lactobacillus rhamnosus* ανήκει στους προαιρετικά ομοζυμωτικούς λακτοβάκιλλους, όπου οι προαιρετικά ετεροζυμωτικοί λακτοβάκιλλοι μπορούν και ζυμώνουν τις εξόζες και παράγουν γαλακτικό οξύ. Οι λακτοβάκιλλοι αυτοί διαφοροποιούνται από τους υπολοίπους, στο γεγονός ότι μπορούν να ζυμώσουν και τις πεντόζες προς παραγωγή γαλακτικού και οξικού οξέος (Stiles M., Holzapfel W., 1997), με το είδος *Lactobacillus rhamnosus* συγκεκριμένα, να είναι πηγή ενδιαφέροντος για την πρόληψη ορισμένων ασθενειών συμπεριλαμβανομένης και της δυσανεξίας στη λακτόζη (Honda H., Kataoka F., et al. 2007).

Η ιδέα της βελτίωσης της σύνθεσης του εντερικού ικροβιώματος με ορισμένα επιλεγμένα προβιοτικά στελέχη, όπως τα προαναφερθέντα *Bifidobacterium longum* και *Lactobacillus rhamnosus*, αντιπροσωπεύει μια θεραπευτική προσέγγιση για τα συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη. Συγκεκριμένα, τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB-λακτοβάκιλλοι) αποτελούν μεγάλο μέρος του εντερικού μικροβιώματος και οι προβιοτικές τους λειτουργίες είναι καλά τεκμηριωμένες. (Honda H., Kataoka F., et al. 2007).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε από το Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών & Ανθρώπινης Ογκολογίας στο Πανεπιστήμιο του Μπάρι Aldo Moro, διερευνήθηκαν οι επιδράσεις των *Bifidobacterium longum* BB536 και *Lactobacillus rhamnosus* HN001, σε συνδυασμό με βιταμίνη Β6 στο εντερικό μικροβίωμα μίας ομάδας ασθενών με επίμονα γαστρεντερικά προβλήματα. Τα άτομα αυτά, βρίσκονταν σε δίαιτα χωρίς λακτόζη, λόγω διάγνωσής τους με δυσανεξία στη λακτόζη. Η ομάδα της έρευνας αυτής αποτελούνταν από 135 ενήλικες συμπτωματικούς ασθενείς και των δύο φύλων (54 άνδρες και 81 γυναίκες). Οι ασθενείς ενθαρρύνθηκαν να εισαγάγουν στη διατροφή τους γαλακτοκομικά προϊόντα άνευ λακτόζης, ώστε να ακολουθήσουν μία δίαιτα χωρίς λακτόζη για τουλάχιστον έξι μήνες. Η μελέτη ήταν μια διασταυρούμενη, τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη και πραγματοποιήθηκε στο Clinica Medica «A. Murri» του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών & Ανθρώπινης Ογκολογίας στο Πανεπιστήμιο του Μπάρι Aldo Moro μεταξύ Ιανουαρίου 2017 και Δεκεμβρίου 2018. Κατά την περίοδο εκτέλεσης, τα άτομα τυχαιοποιήθηκαν για να λάβουν είτε τα προβιοτικά, τα οποία ήταν σκευάσματα ZR: 3g εμπλουτισμένα με *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus rhamnosus* και με βιταμίνη Β6 1,4 mg, ή το εικονικό φάρμακο (PL: σκευάσματα που περιέχουν μαλτοδεξτρίνες, άμυλο αραβοσίτου, διοξείδιο του πυριτίου και κανένα προβιοτικό). Η μελέτη περιελάμβανε μια πρώτη περίοδο ενός μήνα θεραπείας με το αντίστοιχο σκεύασμα, ακολουθούμενη από 15 ημέρες ελεύθερες, και μια δεύτερη περίοδο ενός μήνα θεραπείας μετά τη διασταύρωση. Κατά τη διάρκεια των δύο εβδομάδων πριν από την έναρξη, καθώς και καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, απαγορεύθηκαν τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, τα αντιπηκτικά, τα αντιβιοτικά ή προβιοτικά. Άλλες θεραπείες (δηλαδή, αντισπασμωδικά, τριπτάνες, αντιχολινεργικά, φάρμακα ρύθμισης της κινητικότητας και οσμωτικά καθαρτικά και αντικαταθλιπτικά ή αγχολυτικά φάρμακα) απαγορεύτηκαν επίσης σε σταθερές δόσεις τις τέσσερις εβδομάδες πριν από την τυχαιοποίηση και κατά τη διάρκεια ολόκληρης της μελέτης. Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στις ημέρες 0 (T0), 30 (T30), 45 (T45) και 75 (T75), και περιελάμβαναν συμπτώματα, ανθρωπομετρικές αξιολογήσεις, μικροβίωμα κοπράνων και μετρήσεις μεταβολισμού. Έπειτα από αυτές τις αναλύσεις παρατηρήθηκε το γεγονός ότι, τα προβιοτικά *Bifidobacterium longum* και *Lactobacillus rhamnosus* με εμπλουτισμό βιταμίνης Β6, επηρεάζουν το μικροβίωμα των κοπράνων των ασθενών με δυσανεξία στη λακτόζη. Στο τέλος της θεραπείας με *Bifidobacterium Longum* (BB536) και *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), παρατηρήθηκε μία θετική μεταβολή της εντερικής μικροβιακής σύνθεσης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα

της έρευνας, η θεραπεία με προβιοτικά και βιταμίνη Β6 μπορεί να είναι χρήσιμη για την ανακούφιση των συμπτωμάτων σε άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη, μέσω της θετικής διαμόρφωσης της εντερικής μικροβιακής σύνθεσης που προκαλεί. Επιπλέον μάλιστα, φάνηκε ότι η σχετική αφθονία *Bifidobacterium* στα κόπρανα, συσχετίστηκε αρνητικά με το φούσκωμα και το κοιλιακό άλγος των ασθενών με δυσανεξία στη λακτόζη. (Paola Vitellio, Giuseppe Celano, et al. 2019). Επίσης, πράγματι και από προηγούμενες μελέτες αποδείχθηκε ότι το *Bifidobacterium longum*, καθώς και το *Lactobacillus rhamnosus*, βελτιώνουν τα γενικά γαστρεντερικά συμπτώματα, προάγουν την ανοχή στη λακτόζη και προωθούν μία θετική αναδιαμόρφωση της μικροβιακής σύνθεσης του εντέρου. Ακόμη και με χαμηλότερη πρόσληψη διαιτητικών ινών από τις συνιστώμενες οδηγίες, η δυσκοιλιότητα έδειξε τάση βελτίωσης. (Agustina R., Lukito W., et al. 2007). Πρόσφατη έρευνα επίσης, υποδηλώνει ότι η σύνθεση προβιοτικών βακτηρίων που περιέχουν *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium breve*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* και *Bifidobacterium infantis*, βελτιώνουν τα συμπτώματα μετεωρισμού και φουσκώματος σε ασθενείς με δυσανεξία στη λακτόζη. (Yuce O., Kalayci A.G., et al. 2016).

3.2 Εντερικό μικροβίωμα και δυσανεξία στη γλουτένη-κοιλιοκάκη.

Η πιο γνωστή μορφή δυσανεξίας στη γλουτένη είναι η ονομαζόμενη κοιλιοκάκη, η οποία φαίνεται πως επηρεάζει έναν στους 141 ανθρώπους, στις Ηνωμένες Πολιτείες, σύμφωνα με το Υπουργείο Υγείας και Ανθρωπίνων Υπηρεσιών των ΗΠΑ. Όταν ένα άτομο που πάσχει από κοιλιοκάκη καταναλώσει γλουτένη, προκαλεί μια ανοσοαπόκριση η οποία βλάπτει το εντερικό του σύστημα, εμποδίζοντας την απορρόφηση απαραίτητων θρεπτικών συστατικών. (Dunn C., House, et al. 2014). Η κοιλιοκάκη είναι μια εντεροπάθεια που προκαλείται από το ανοσοποιητικό σύστημα και η αιτία που πυροδοτεί την έξαρσή της ονομάζεται γλουτένη. Η εντεροπάθεια αυτή φαίνεται πως εκδηλώνεται ειδικά, σε άτομα με γενετική προδιάθεση, και τα οποία φέρουν ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων DQ2 ή DQ8. Η τρέχουσα θεραπεία της νόσου, είναι η τήρηση μιας δίαιτας χωρίς γλουτένη. Οι λεγόμενες ‘δίαιτες ελεύθερες γλουτένης’. (Dunn C., House, et al. 2014). Κάποια από τα πιο συνήθη συμπτώματα της κοιλιοκάκης και οι περιοχές στις οποίες απαντώνται, αναφέρονται παρακάτω:

Στο πεπτικό σύστημα : Φουσκώματα, αίσθημα μετεωρισμού, διαταραχές στις κενώσεις (κυρίως διάρροιες), μειωμένη όρεξη, απώλεια βάρους, αδυναμία ανάκτηση βάρους.

Στη στοματική κοιλότητα: Πληγές-έλκη, διάβρωση αδαμαντίνης των οδόντων, κακοσμία του στόματος και ουλίτιδα.

Στο δέρμα: Δερματικές βλάβες, έρπητας, ακμή, εύθραυστα νύχια, έκζεμα, ωχρό δέρμα.

Άλλα: Πόνοι των αρθρώσεων, κόπωση, σιδηροπενική αναιμία, νευρολογικές διαταραχές (όπως λήθαργος και κατάθλιψη).

Καθώς αναπτύσσονται νέες θεραπείες, μελετώνται επίσης συμπληρωματικές στρατηγικές, όπως είναι η διαμόρφωση του μικροβιώματος του εντέρου, προς αντιμετώπιση της νόσου. Το μικροβίωμα του εντέρου εμπλέκεται στην έναρξη και τη διαίωσιση της εντερικής φλεγμονής σε πολλές χρόνιες ασθένειες. Μία από αυτές είναι και η δυσανεξία στη γλουτένη. Αρκετές μελέτες έχουν εντοπίσει διαφορετικούς πληθυσμούς βακτηρίων που σχετίζονται με ασθενείς με κοιλιοκάκη και υγιή άτομα. Ωστόσο, δεν είναι ακόμη σαφές εάν η εντερική δυσβολία είναι η αιτία ή, το αποτέλεσμα της κοιλιοκάκης. Τα προβιοτικά έχουν επίσης θεωρηθεί ως στρατηγική για τη ρύθμιση του μικροβιώματος του εντέρου σε μια αντιφλεγμονώδη κατάσταση, τα οποία και αναλύονται περισσότερο στη συνέχεια. Ωστόσο, υπάρχει έλλειψη δεδομένων που υποστηρίζουν τη χρήση τους για τη θεραπεία της κοιλιοκάκης ως απολύτως αποτελεσματική. (Richa Chibbar and Levinus A. Dieleman, 2019).

Εκτιμάται πως τρισεκατομμύρια μικροοργανισμών κατοικούν στο έντερό μας και συμβάλλουν στις φυσιολογικές του λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης του μεταβολισμού και της ομοιόστασης του ανοσοποιητικού συστήματος. (Hills R.D., Jr., Pontefract B.A., et al. 2019), (Jandhyala S.M., Talukdar R., et al. 2015). Η σύνθεση των μικροβίων του εντέρου, όπως έχει προαναφερθεί, καθιερώνεται νωρίς στη ζωή και παραμένει αρκετά σταθερή καθ 'όλη τη διάρκεια της ζωής σε συμβιωτική σχέση με τον ξενιστή. Η δυσβίωση είναι η ανισορροπία μεταξύ των ωφέλιμων και των παθογόνων μικροοργανισμών στον ξενιστή. Σε ασθενείς με κοιλιοκάκη, από εντερικές βιοψίες που πραγματοποιήθηκαν, αναφέρθηκε υψηλή συσχέτιση μεταξύ των βακτηριδίων σε σχήμα ράβδου στο έντερο και της νόσου. Στη συνέχεια, τόσο σε καλλιέργειες κοπράνων όσο και σε βιοψίες δωδεκαδακτύλου, αναφέρθηκαν αυξημένοι σε αφθονία gram- αρνητικοί μικροοργανισμοί, βακτηριοειδή, Clostridium, και E.Coli σε ασθενείς με κοιλιοκάκη, σε σύγκριση με υγιείς ενήλικες. (Collado M.C., Donat E, et al.2009). Έκτοτε, υπάρχουν

πολλές μελέτες σε δείγματα κοπράνων και βλεννογόνου δωδεκαδακτύλου χρησιμοποιώντας διάφορες τεχνικές, συμπεριλαμβανομένης της αλληλουχίας γονιδίου 16SrRNA. Έχει αποδειχθεί από τις έρευνες πως η διατροφή ελεύθερη γλουτένης, επηρεάζει άμεσα το εντερικό μικροβίωμα και άρα και την έκβαση της νόσου της κοιλιοκάκης. Συνολικά, οι περισσότερες βιοψίες δωδεκαδακτύλου ασθενών με κοιλιοκάκη σε σύγκριση με υγιή άτομα, εμφάνισαν δυσβίωση και αποκάλυψαν αυξημένο αριθμό αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, βακτηριοειδών, Firmicutes, E. Coli, Enterobacteriaceae, Staphylococcus και μείωση των Bifidobacterium, Streptococcus, Prevotella και Lactobacillus. (Collado M.C., Donat E, et al.2009). Οι μελέτες δειγμάτων κοπράνων και βλεννογόνου δωδεκαδακτύλου από βιοψίες σε ασθενείς με κοιλιοκάκη οι οποίοι ακολουθούσαν δίαιτα ελεύθερη γλουτένης έναντι εκείνων που λάμβαναν γλουτένη στην τροφή τους, και φυσιολογικού υγιούς πληθυσμού, έδειξαν επίσης μεταβολή στο μικροβίωμα του εντέρου. Οι ασθενείς με κοιλιοκάκη σε δίαιτα γλουτένης εμφάνισαν αύξηση στα Bacteroides-Prevotella, Clostridium leptum, Histolitycum, Eubacterium, Atopobium και μείωση των Bifidobacterium spp., B.longum, Lactobacillus spp., Leuconostoc, E. Coli και Staphylococcus σε σύγκριση με τον φυσιολογικό πληθυσμό (Di Cagno R., De Angelis M., et al.2011). Όταν οι ασθενείς με κοιλιοκάκη υποβλήθηκαν σε θεραπεία με δίαιτα ελεύθερη γλουτένης, η αυξημένη συγκέντρωση μικροβίων μειώθηκε σε εκείνη του κανονικού πληθυσμού, υποδηλώνοντας έτσι ότι η δίαιτα επηρέασε σημαντικά το εντερικό μικροβίωμα. (Collado M.C., Donat E, et al.2009). Για να κατανοήσουμε καλύτερα τον βιοχημικό μηχανισμό της επίδρασης του μικροβιώματος του εντέρου στην κοιλιοκάκη, έγιναν δοκιμές σε ποντίκια, όπου φάνηκε ότι το ‘Lactobacillus’ είχε προστατευτικό αποτέλεσμα σε σχέση με την ανοχή στη γλουτένη και την κοιλιοκάκη, ενώ το Pseudomonas aeruginosa συσχετίστηκε με την ανάπτυξη κοιλιοκάκης. Η ψευδομονάδα aeruginosa βρέθηκε ότι εκκρίνει την ελαστάση ‘LasB’ η οποία μεταβάλλει τον εντερικό φραγμό και διευκολύνει τη μετατόπιση των πεπτιδίων γλιαδίνης στο προπύριο ελάσματος όπου ενεργοποιούνται και τα αντιγόνα του βλεννογόνου. Αντίθετα, τα στελέχη Lactobacillus παρήγαγαν πρωτεάσες που διέσπασαν τη γλουτένη σε μικρότερα πεπτίδια, μειώνοντας έτσι την έκκριση αντιγόνων, από το βλεννογόνο του εντέρου. (Caminero A., Galipeau H. et al. 2016).

3.2.1 Παράγοντες που ρυθμίζουν τις αποικίες του εντερικού μικροβιώματος στην κοιλιοκάκη.

Υπάρχει μια ισχυρή σχέση μεταξύ των ανθρώπινων λευκοκυτταρικών αντιγόνων (ή αλλιώς αντιγόνων ιστοσυμβατότητας) HLA-DQ2/8 και της κοιλιοκάκης. Αρκετοί ερευνητές έχουν εξετάσει αυτήν τη σχέση με το μικροβίωμα του εντέρου. Βρέφη με αντιγόνα ιστοσυμβατότητας HLA-DQ2 και HLA-DQ8, καθώς και συγγενείς πρώτου βαθμού πασχόντων ατόμων με κοιλιοκάκη, φαίνεται να έχουν αυξημένα Firmicutes και Proteobacteria και λιγότερα Actinobacteria and Bifidobacterium. Το γεγονός αυτό, υποδηλώνει ότι ο γονότυπος των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας HLA συσχετίζεται με τον αποικισμό του εντέρου από συγκεκριμένα βακτήρια, τα οποία φαίνεται να είναι πιο διαδεδομένα σε ασθενείς με κοιλιοκάκη, καθώς και στους συγγενείς τους (Olivares M., Neef A., et al.2015).

Στα βρέφη απλότυπου αντιγόνου ιστοσυμβατότητας HLA-DQ2 / 8, το μικροβίωμα του εντέρου επηρεάστηκε περαιτέρω από τον τύπο σίτισης, με το θηλασμό να έχει προστατευτικό αποτέλεσμα έναντι της κοιλιοκάκης (Ivarsson A., Hernell O et al. 2002). Τα μωρά που θηλάζουν είχαν υψηλότερα επίπεδα *Clostridium leptum*, *Bifidobacterium longum* και *Bifidobacterium* σε σύγκριση με τα μωρά που τρέφονταν με φόρμουλα, των οποίων το κόλον είχε υψηλότερο αριθμό *Bacteroides fragilis*, *Clostridium coccoides-Eubacterium rectale* και *E.coli*. Ο θηλασμός πιστεύεται ότι έχει προστατευτική επίδραση απέναντι στην ανάπτυξη κοιλιοκάκης, παρ'όλο που δεν μπορεί να επιβεβαιωθεί με ακρίβεια σε ορισμένες μελέτες (Lionetti E., Castellaneta S, et al. 2014). Μελέτες παρατήρησης έδειξαν επίσης αυξημένο επιπολασμό της κοιλιοκάκης σε παιδιά που γεννήθηκαν με καισαρική τομή, μιας και αυτά έχουν μειωμένη ποικιλία εντερικής μικροχλωρίδας και μειωμένα βιφιδοβακτήρια. (Namatovu F., Olsson C., et al. 2016).

Η χρήση αντιβιοτικών κατά το πρώτο έτος της ζωής συσχετίστηκε επίσης με εντερική δυσβίωση, μειωμένη μικροβιακή ποικιλότητα κοπράνων και πρόωμη έναρξη κοιλιοκάκης. Η σχετιζόμενη με τα αντιβιοτικά ανισσοροπία, έδειξε μειωμένους αριθμούς *Bifidobacterium longum* και αυξημένους αριθμούς *Bacteroides fragilis* (Pozo-Rubio T., de Palma G., et al. 2013). Επιπλέον, οι Canova et al. έδειξαν τη σχέση δόσης-απόκρισης της χρήσης αντιβιοτικών με την έναρξη και τον κίνδυνο κοιλιοκάκης, και ειδικά, με αυξημένη πρόσληψη κεφαλοσπορινών (Canova C., Zabeo V., et al. 2014). Όπως ήδη συζητήθηκε, η κοιλιοκάκη συσχετίστηκε με μειωμένους αριθμούς *Bifidobacteria*, υποστηρίζοντας την υπόθεση ότι η δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για κοιλιοκάκη (De Palma G., Nadal I., et al. 2010).

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, ιδίως η επεξεργασία τροφίμων και τα πρόσθετα, αναγνωρίζονται όλο και περισσότερο ως παράγοντες που συμβάλλουν στην αύξηση της συχνότητας εμφάνισης της κοιλιοκάκης. Τα νανοσωματίδια που χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των μεταλλικών νανοσωματιδίων, έχουν αντιμικροβιακές δραστηριότητες. Μελέτες μοντέλου ποντικών *in vitro* παρατήρησαν μια μεταβολή των μικροβίων του εντέρου, έπειτα από την έκθεσή τους σε αυτές τις ουσίες (Dudefoi W., Moniz Ket al. 2017), καθώς επίσης παρατηρήθηκε η δοσοεξαρτώμενη επίδραση που ασκούν στο μικροβίωμα του εντέρου τα νανοσωματίδια του αργύρου (Brule S., Ambroise J., et al. 2016).

3.2.2 Η επίδραση του εντερικού μικροβιώματος στην επεξεργασία της γλουτένης.

Η γλουτένη μπορεί να μεταβολιστεί από 144 στελέχη 35 βακτηριακών ειδών. Τα περισσότερα από αυτά τα στελέχη προέρχονταν από τα φύλα Firmicutes και Actinobacteria, βακτήρια τα οποία δρουν προστατευτικά απέναντι στην κοιλιοκάκη. (Caminero A., Galipeau H.Jet al. 2016). Έχει δειχθεί πως η μερική πέψη της γλουτένης, σε πεπτίδια μεγαλύτερα των δέκα αμινοξέων στο έντερο, είναι ανοσογόνος (αναγνωρίζεται ως δυνητικά επικίνδυνη). Αυτό όμως, μπορεί να μεταβληθεί από τα βακτήρια του εντέρου, ειδικά από τα βακτήρια του γένους Lactobacilli και Bifidocbacterium. Τα οποία βακτήρια, μπορούν να απελευθερώσουν πεπτιδάσες οι οποίες είναι ικανές να διασπούν τα πεπτίδια και να τροποποιούν το ανοσογόνο δυναμικό τους. (Pinto-Sanchez M.I., Verdu E.F., 2015). Η ψευδομονάδα aeruginosa αποτελεί ένα σοβαρά παθογόνο βακτήριο για τους ασθενείς με κοιλιοκάκη. Οι Caminero et al. απέδειξαν ότι το Pseudomonas aeruginosa είναι ικανό να ενισχύσει την ανοσογονικότητα, ενώ τα φύλα του Lactobacillus που απομονώθηκαν από τους μάρτυρες χωρίς κοιλιοκάκη, μείωσαν την ανοσογονικότητα των πεπτιδίων που παράγονται από το Pseudomonas aeruginosa (Caminero A., Galipeau H.Jet al. 2016). Οι Herran et al. επίσης, απομόνωσαν 31 στελέχη βακτηρίων που αποικοδομούν τη γλουτένη από το ανθρώπινο λεπτό έντερο, εκ των οποίων τα 27 στελέχη επέδειξαν πεπτιδολυτική δράση. Τα γαλακτοβακίλλια ήταν τα πιο αντιπροσωπευτικά γένη, γεγονός που υποδηλώνει τον προστατευτικό ρόλο του Lactobacillus στην πέψη των τροφών που περιέχουν γλουτένη, με μείωση της ανοσογονικότητας των πεπτιδίων που προήλθαν από το Pseudomonas aeruginosa. Για να αναπτυχθούν αποτελεσματικά οι Lactobacilli απαιτούν υψηλές ποσότητες αμινοξέων για την απαραίτητη πηγή αζώτου και για τον μεταβολισμό της ενέργειας. Συνοψίζοντας, οι Lactobacilli και τα Bifidocbacterium πιστεύεται ότι έχουν

ένα σύνθετο πρωτεολυτικό και πεπτιδολυτικό σύστημα, το οποίο μπορεί να εμπλέκεται στη διάσπαση της γλουτένης και των πεπτιδίων της και έχει τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί ως προβιοτικό συμπλήρωμα σε ασθενείς με κοιλιοκάκη (Olivares M., Lapaarra M., et al. 2012).

3.2.3 Η επίδραση της δυσβίωσης του μικροβιώματος στο φράγμα του εντέρου, στην κοιλιοκάκη.

Η εντερική άμυνα ενάντια στα παθογόνα βακτήρια, περιλαμβάνει ένα φυσικό φράγμα που δημιουργείται από σύμπλοκα βλεννογόνου και ισχυρού δεσμού μεταξύ των γειτονικών επιθηλιακών κυττάρων. Αυτές οι στενές συνδέσεις εμποδίζουν την είσοδο των παθογόνων και των τοξικών μορίων στο τοίχωμα του εντέρου. Η παρατεταμένη φλεγμονή ή λοίμωξη μπορεί να οδηγήσει σε απορρύθμιση στην έκφραση των μορίων προσκόλλησης των στενών αυτών δεσμών, που οδηγούν στην είσοδο μικροβίων και τοξικών ανοσογόνων ουσιών στα ελάσματα. Από τις πολλές πρωτεΐνες που εμπλέκονται τις στενές αυτές συνδέσεις, η αποσυναρμολόγηση της ζονουλίνης έχει εμπλακεί περισσότερο σε ασθενείς με κοιλιοκάκη. (Heyman M., Abed Jet al. 2012), (Lammers K.M., Lu R., et al. 2008). Μελέτες *in vitro*, έδειξαν ότι η ζονουλίνη μπορεί να προκληθεί τόσο από πεπτίδια γλουτένης όσο και από εντερικά βακτήρια. Η απελευθέρωση της ζονουλίνης *in vivo* έχει επίσης αναφερθεί ότι επηρεάζεται από τις αλλαγές στη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος (Vorobjova T., Raikkerus H., et al. 2017). Ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι τα πεπτίδια γλιαδίνης συνδέονται με τον προφλεγμονώδη υποδοχέα κυτοκίνης CXCR3 στο εντερικό επιθήλιο που απελευθερώνει τη ζονουλίνη, διαταράσσοντας έτσι τις ισχυρές συνδέσεις και αυξάνοντας την επιθηλιακή διαπερατότητα. Ο προφλεγμονώδης υποδοχέας CXCL10, ένα πρόσδεμα για τον υποδοχέα CXCR 3, υπερεκφράστηκε στο λεπτό έντερο των ασθενών με κοιλιοκάκη. Ο άξονας προφλεγμονωδών υποδοχέων CXCL10 / CXCR3 μπορεί να ενεργοποιηθεί από τα παθογόνα βακτήρια και έχει προταθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην έναρξη των φλεγμονωδών διεργασιών που προκαλούνται από την εισαγωγή της γλουτένης στο λεπτό έντερο (Heyman M., Abed J., et al. 2012). Η δυσβολία, μέσω της ενεργοποίησης της έμφυτης ανοσοποιητικής οδού, μπορεί να διαταράξει τους στενούς συνδέσμους του εντερικού φράγματος και να διευκολύνει την είσοδο των ημιτελών πεπτιδίων γλιαδίνης στο έπλασμα του ελάσματος. Η δυσβίωση μπορεί επίσης να αυξήσει την ποσότητα και το μέγεθος των πεπτιδίων γλιαδίνης λόγω διαφορετικής πεπτιδολυτικής δραστηριότητας του μικροβιώματος του εντέρου. Αν και αυτές οι αλλαγές

διαπιστώθηκαν, παραμένει ακόμη ασαφές εάν η δυσβίωση του μικροβιώματος που σχετίζεται με την κοιλιοκάκη, παρήγαγε μια φλεγμονώδη απόκριση στη γλουτένη, ή διέγειρε την απόκριση της φλεγμονής του βλεννογόνου. (Cinova J., DePalma G., et al. 2011).

3.2.4 Ο ρόλος των προβιοτικών στην κοιλιοκάκη.

Όπως έχει προαναφερθεί, τα προβιοτικά είναι ζωντανοί οργανισμοί, οι οποίοι όταν καταναλώνονται σε επαρκείς ποσότητες παρέχουν όφελος για την υγεία του ξενιστή. Η δυσβολία αυτών, συμβάλλει άμεσα ή έμμεσα στην κοιλιοκάκη, μιας και τα προβιοτικά ρυθμίζουν το μικροβιακό προφίλ του δωδεκαδακτύλου και αυξάνουν τα ευεργετικά αποικιστικά μικρόβια που επηρεάζουν την πρόγνωση της κοιλιοκάκης. Αρκετές *in vitro* μελέτες και κλινικές δοκιμές έχουν πραγματοποιηθεί για την απόδειξη της ωφελιμότητας της χρήσης των προβιοτικών στην κοιλιοκάκη. Μελέτες *in vitro* έχουν δείξει ότι επιλεγμένα στελέχη *Lactobacilli* όταν προστίθενται στη ζύμωση μαγιάς, μειώνουν τη συγκέντρωση γλουτένης σε <10 ppm και μειώνουν την ανοσοτοξικότητά τους. Οι βιοψίες δωδεκαδακτύλου που ελήφθησαν από ασθενείς με κοιλιοκάκη μετά την κατανάλωση ψωμιού σίτου που παρήχθη με *Lactobacilli* δεν έδειξαν αύξηση στα επίπεδα IL2, IL-10 ή IFN σε σύγκριση με την αρχική τιμή (Rizzello C.G., De Angelis M., et al. 2007). Ενθαρρυντικά αποτελέσματα λήφθηκαν επίσης με *in vivo* μελέτες, όταν ασθενείς με κοιλιοκάκη σε ύφεση, προκλήθηκαν να καταναλώσουν για 60 ημέρες τρόφιμα εμπλουτισμένα με *Lactobacilli*. Δεν υπήρξε επιδείνωση των συμπτωμάτων, της εντερικής διαπερατότητας ή δείκτες που να υποδηλώνουν ότι η όποια πιθανή επιδείνωση ήταν προερχόμενη από *Lactobacilli*. (Francavilla R., De Angelis M., et al. 2017).

Το στέλεχος *Lactobacillus rhamnosus* μείωσε επίσης τις επαγόμενες από το πεπτίδιο γλιαδίνης αλλαγές στις πρωτεΐνες ενδοκυτταρικής διασταύρωσης και την επαγόμενη από γλιαδίνη εντεροπάθεια σε αρουραίους ευαισθητοποιημένους με ιντερφερόνη (ομοδιμερής γλυκοπρωτεΐνη). Παρόμοιες ευεργετικές επιδράσεις του προβιοτικού *Bifidobacterium longum*, παρατηρήθηκαν στο έντερο ζώων απογαλακτισμού, ευαισθητοποιημένων με ιντερφερόνη-γ, υποδηλώνοντας ότι η πρόωμη χορήγηση προβιοτικών μπορεί να έχει προστατευτική επίδραση στον βλεννογόνο του εντέρου (Olivares M., Laparra M., et al. 2012). Οι μελέτες *in vitro* και οι μελέτες σε ζώα έδειξαν ευεργετική επίδραση των προβιοτικών στην πέψη των πεπτιδίων γλιαδίνης, του εντερικού φραγμού και του

ανοσοποιητικού συστήματος, τα οποία έδειξαν επίσης ευεργετικά αποτελέσματα στον εντερικό βλεννογόνο των ποντικών. (Papista C., Gerakopoulos V., et al. 2012), (McCarville A., Dong J., et al. 2017). Επιπλέον μελέτες του μικροβιώματος του εντέρου (βιοψίες κοπράνων και δωδεκαδακτύλου) αποκάλυψαν ότι οι Lactobacilli και τα Bifidobacteria μειώνουν τα συμπτώματα σε ασθενείς με κοιλιοκάκη σε δίαιτα ελεύθερη γλουτένης (Lorenzo Pisarello M.J., Vintiñi E.O., et al. 2015).

Οι μελέτες *in vitro* και οι μελέτες σε ζώα υποστηρίζουν την προσθήκη προβιοτικών στις δίαιτες ελεύθερης γλουτένης, για την ανακούφιση των συμπτωμάτων ή την πρόληψη της νόσου. Παρ' όλα αυτά, υπάρχει έλλειψη μελετών σχετικά με τα προβιοτικά στους ανθρώπους, και επομένως δύσκολο να προσδιοριστεί ο ρόλος τους στη διαχείριση της κοιλιοκάκης. Απαιτείται περαιτέρω εργασία για την καλύτερη κατανόηση του ρόλου των προβιοτικών στον άνθρωπο και την κοιλιοκάκη. Μια βασική κατανόηση του βιοχημικού και μοριακού μηχανισμού με τον οποίο τα προβιοτικά επηρεάζουν την κοιλιοκάκη θα βοηθήσει στην ακριβή διατύπωση του τύπου και της συγκέντρωσης των ωφέλιμων μικροβίων για την ανάπτυξη μιας ασφαλούς θεραπευτικής μεθόδου για την καλύτερευση της πορείας της κοιλιοκάκης. (Ludvigsson J.F., Leffler D.A., et al. 2013).

3.3 Εντερικό μικροβίωμα και Ιδιοπαθής Φλεγμονώδης Νόσος του Εντέρου-ΙΦΝΕ.

Η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, είναι μια χρόνια και υποτροπιάζουσα φλεγμονώδης διαταραχή του εντέρου. Τα ιδιοπαθή φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου (ΙΦΝΕ) περιλαμβάνουν την ελκώδη κολίτιδα και τη νόσο του Crohn, οι οποίες προκαλούν φλεγμονή του πεπτικού σωλήνα. Η ελκώδης κολίτιδα προσβάλλει την εσωτερική επένδυση του παχέος εντέρου, ενώ η νόσος Crohn μπορεί να επηρεάσει οποιοδήποτε τμήμα της γαστρεντερικής οδού. Πρόκειται για χρόνιες παθήσεις με περιόδους υποτροπής, οι οποίες χαρακτηρίζονται από διάφορα συμπτώματα με κύρια αυτά του κοιλιακού πόνου και της σοβαρής διάρροιας. (ANDERSON JL, EDNEY RJ, WHELAN K. 2012). Τα προβιοτικά στελέχη του γένους Bifidobacterium και Lactobacillus φαίνεται να ανακουφίζουν από τα συμπτώματα των ΙΦΝΕ, διότι εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη δράση και προστατεύουν τον εντερικό βλεννογόνο. (Katsuyoshi Matsuoka and Takanori Kanai 2015).

Η εμπλοκή των μικροβίων στην αιτιολογία των φλεγμονωδών νόσων του εντέρου έχει διερευνηθεί εκτεταμένα στο παρελθόν, και κατά καιρούς διάφορα μικρόβια έχουν ενοχοποιηθεί, ένα εκ των οποίων είναι το *Mycobacterium avium* (υπότυπος *paratuberculosis*), το οποίο έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση της νόσου Crohn. Παρ' ότι είναι δύσκολο να εντοπιστούν συγκεκριμένοι «μικροβιακοί ένοχοι» και δεν υπάρχουν σαφή συμπεράσματα για κάποιο ειδικό παθογόνο που να προκαλεί ΙΦΝΕ, πολλαπλές μελέτες έχουν δείξει αλλαγή στη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος, τόσο στην ελκώδη κολίτιδα όσο και στη νόσο Crohn. Φαίνεται ότι στα ΙΦΝΕ 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. (ANDERSON JL, EDNEY RJ, WHELAN K. 2012). Πρέπει να τονιστεί ότι μέχρι σήμερα δεν έχει αποσαφηνιστεί αν οι σχετιζόμενες με τα ΙΦΝΕ αλλαγές στην εντερική μικροχλωρίδα αποτελούν την αιτία ή τη συνέπεια των ΙΦΝΕ. Εκτός όμως από το ρόλο της μικροχλωρίδας, αναφορικά με τα ΙΦΝΕ, υπάρχει και η επίδραση του φαινότυπου του ξενιστή, όπως προκύπτει από μελέτες, οι οποίες έχουν εντοπίσει πολλαπλούς γενετικούς τύπους οι οποίοι σχετίζονται με την παθοφυσιολογία των ΙΦΝΕ. (SARTOR RB. 2008). Φαίνεται λοιπόν, ότι άτομα που φέρουν αρκετούς από αυτούς τους γενετικούς τύπους 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. (SEKIROV I, RUSSELL SL, et al. 2010). Επομένως, εάν οι διαταραχές στο μικροβίωμα συσχετίζονται με τα ΙΦΝΕ, τότε ενδεχομένως η θεραπευτική μεταβολή της μικροχλωρίδας μπορεί να έχει ευεργετική επίδραση σε ασθενείς με ΙΦΝΕ. (ANDERSON JL, EDNEY RJ, WHELAN K. 2012).

Η πρόοδος της τεχνολογίας προσδιορισμού αλληλουχίας DNA επόμενης γενιάς, επέτρεψε τον εντοπισμό διαφόρων αλλαγών της σύνθεσης των μικροβίων του εντέρου στην φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Ενώ ορισμένα αποτελέσματα που σχετίζονται με τη δυσβίωση στη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου διαφέρουν μεταξύ των μελετών λόγω παραλλαγών του τύπου δείγματος, της μεθόδου διερεύνησης, των προφίλ των ασθενών και

της φαρμακευτικής αγωγής, η πιο συνεπής παρατήρηση στη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου είναι η μειωμένη ποικιλομορφία των βακτηρίων, η μείωση των Firmicutes και η αύξηση των πρωτεοβακτηρίων. (Katsuyoshi Matsuoka and Takanori Kanai 2015). Μεταξύ των Firmicutes, έχει αναφερθεί σε πολλές μελέτες και μείωση των ομάδων *Clostridium leptum*, ιδίως *Faecalibacterium prausnitzii* (Manichanh C, et al. 2006). Πολλά από τα γνωστά γονίδια ευαισθησίας της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου σχετίζονται με την αναγνώριση και την επεξεργασία βακτηρίων, η οποία συνάδει με το ρόλο των μικροβίων στην παθογένεση της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου. Ορισμένες δοκιμές έχουν δείξει ότι οι θεραπείες για τη διόρθωση της ανισοροπίας στο εντερικό μικροβίωμα, συμπεριλαμβανομένης της μεταμόσχευσης μικροβιώματος κοπράνων, καθώς και των προβιοτικών, είναι πολλά υποσχόμενες στην ανακούφιση των συμπτωμάτων της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου. (Katsuyoshi Matsuoka and Takanori Kanai 2015).

Έπειτα από μελέτες, τονίστηκε η συμμετοχή του μικροβιώματος του εντέρου στην παθοφυσιολογία της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου. Αρκετές ενδείξεις υποδηλώνουν ουσιαστικό ρόλο του μικροβιώματος του εντέρου στην εντερική φλεγμονή. (Rutgeerts P, et al. 1991). Λαμβάνοντας υπόψη αυτές τις παρατηρήσεις, η πιο αποδεκτή υπόθεση της παθογένεσης της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου μέχρι σήμερα είναι ότι μια παρεκκλίνουσα ανοσοαπόκριση έναντι του μικροβιώματος του εντέρου προκαλείται από περιβαλλοντικούς παράγοντες σε έναν γενετικά ευαίσθητο ξενιστή. (Katsuyoshi Matsuoka and Takanori Kanai 2015). Όπως έχει προαναφερθεί, ο ξενιστής παρέχει ένα πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά περιβάλλον για τα βακτήρια του εντέρου, και αυτά με τη σειρά τους, συμβάλλουν στον ξενιστή παράγοντας λιπαρά οξέα βραχέας αλύσου καθώς και απαραίτητες βιταμίνες. Αυτή η αμοιβαία σχέση μεταξύ του ξενιστή και των βακτηρίων του εντέρου ονομάζεται συμβίωση. (Frank DN, et al. 2007), (Manichanh C, et al. 2006).

Ενώ το μικροβίωμα του εντέρου σε υγιή άτομα παρουσιάζει μικρές αλλαγές, το μικροβίωμα του εντέρου αντιθέτως σε ασθενείς με ΙΦΝΕ είναι ασταθές. Επιπλέον, μια μελέτη που εξέτασε διαμήκως το μικροβίωμα του εντέρου σε ασθενείς με ΙΦΝΕ για ένα έτος, έδειξε ότι το μικροβίωμα του εντέρου ήταν ασταθές ακόμη και σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα σε ύφεση (Martinez C, et al. 2008). Πριν από την υποτροπή της ελκώδους κολίτιδας, μειώνονται τα φυσιολογικά αναερόβια βακτήρια όπως τα *Bacteroides*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* και *Ruminococcus* και μειώνεται επίσης η γενική ποικιλομορφία των μικροβίων του εντέρου. Σε ασθενείς με νόσο του Crohn επίσης, η δυσβολία παρατηρείται ακόμη και σε ασθενείς σε ύφεση. (Ott SJ, et al.

2008). Η φαρμακευτική αγωγή των ΙΦΝΕ, επηρεάζει επίσης τη σύνθεση του μικροβιώματος του εντέρου. Η μεσαλαζίνη, για παράδειγμα, μειώνει τον συνολικό αριθμό βακτηρίων σχεδόν στο ήμισυ (Andrews CN, et al. 2011). Τα αντιβιοτικά επίσης, έχει αποδειχθεί πως ενισχύουν δραματικά τη δυσβολία του εντερικού μικροβιώματος στις ΙΦΝΕ (Gevers D, et al. 2014).

Παρ' όλα αυτά, ακόμη παραμένει αμφιλεγόμενο το ερώτημα εάν η δυσβίωση είναι η αιτία ή η συνέπεια της εντερικής φλεγμονής στις ΙΦΝΕ. Η σύγκριση της σύνθεσης του μικροβιώματος του εντέρου των ασθενών με ΙΦΝΕ, με εκείνη των μη νοσούντων από ΙΦΝΕ συγγενών τους, οι οποίοι είναι πιθανό να έχουν γενετικό και περιβαλλοντικό υπόβαθρο, είναι χρήσιμη για την παροχή αποδεικτικών στοιχείων σχετικών με αυτό το αμφιλεγόμενο ερώτημα. Μεταξύ διδύμων, φάνηκε ότι το εντερικό μικροβίωμα δεν ήταν το ίδιο, ανάμεσα στον πρώτο όπου νοσούσε με ελκώδη κολίτιδα και τον δεύτερο όπου δε νοσούσε. (Lepage P, et al. 2011). Παρ' όλα αυτά, αναφέρθηκε ότι παρατηρήθηκε μια παράλληλη μείωση του φύλου *F. prausnitzii* τόσο στους ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα όσο και στους συγγενείς τους πρώτου βαθμού (Varela E, et al. 2013). Οι μη επηρεασμένοι συγγενείς των ασθενών με ελκώδη κολίτιδα είχαν επίσης δυσβολία, αν και ήταν διαφορετική από τη δυσβολία που παρατηρήθηκε σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα (Joossens M, et al. 2011). Επιπλέον, αναφέρθηκε ότι η γενετική κατάσταση των γονιδίων 'NOD2' και 'ATG18L', τα οποία είναι δύο κύρια γονίδια ευαισθησίας της ελκώδους κολίτιδας, συσχετίστηκαν με αλλοίωση του μικροβιώματος του εντέρου. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η δυσβίωση προκαλείται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, αντί να είναι συνέπεια κάποιας φλεγμονής. (Frank DN, et al. 2011).

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει τη δυνατότητα χρήσης του μικροβιώματος του εντέρου ως βιοδείκτη των ΙΦΝΕ. Το γένος Firmicutes, για παράδειγμα, αυξήθηκε σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα οι οποίοι ανταποκρίθηκαν στη μεσαλαζίνη. Επιπλέον, το ποσοστό υποτροπής ήταν χαμηλότερο σε μετεγχειρητικούς ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα, που είχαν παρόμοια σύνθεση μικροβιώματος του εντέρου με υγιείς μάρτυρες, από εκείνους με δυσβολία (Dey N, et al. 2013). Σε μελέτη με μία μεγαλύτερη ομάδα εντερικού μικροβιώματος ασθενών με νόσο του Crohn, συγκρίνοντας 447 νεοδιαγνωσθέντες παιδιατρικούς ασθενείς με νόσο του Crohn, με 221 υγιείς μάρτυρες, οι Gevers et al. πρότειναν τον «δείκτη δυσβολίας», όπου αποδείχθηκε ότι ο δείκτης αυτός σχετίζεται με τη σοβαρότητα της νόσου του Crohn. (Gevers D, et al. 2014). Ανέφεραν επίσης, ότι το

προφίλ του μικροβιώματος του εντέρου μπόρεσε να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικός δείκτης της νόσου του Crohn, καθώς επίσης φάνηκε χρήσιμο και για την πρόβλεψη της σοβαρότητας της νόσου στους επόμενους έξι μήνες. Αυτή η έκθεση, ενθαρρύνει περαιτέρω προσπάθειες για τη χρήση του μικροβιακού προφίλ του εντέρου ως διαγνωστικό εργαλείο ή ως βιοδείκτη για τη δραστηριότητα της νόσου, την πρόγνυσή της, ακόμη και την ανταπόκρισή της στη θεραπεία. (Katsuyoshi Matsuoka and Takanori Kanai 2015).

3.3.1 Ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στις Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσους του Εντέρου, αποκαλύπτεται βάση των γονιδίων προδιάθεσης.

Πρόσφατα, ανακαλύφθηκε η συσχέτιση μεταξύ των γονιδίων προδιάθεσης για εμφάνιση ΙΦΝΕ, με τα εντερικά βακτήρια. Η ανάπτυξη της μελέτης συσχέτισης σε ολόκληρο το γονιδίωμα, έχει συμβάλει σημαντικά στον εντοπισμό περισσότερων από 160 γονιδίων προδιάθεσης ΙΦΝΕ μέχρι σήμερα (Jostins L, et al. 2012). Πολλά από τα γονίδια προδιάθεσης για τη νόσο του Crohn, σχετίζονται με την αναγνώριση και την επεξεργασία των βακτηρίων. Επίσης, πολλά από τα γονίδια ευαισθησίας για την ελκώδη κολίτιδα σχετίζονται με τη λειτουργία του φραγμού του βλεννογόνου. Υποδηλώνοντας έτσι, ότι η μειωμένη λειτουργία του μικροβιώματος του βλεννογόνου του εντέρου ή και η διακοπή της ορθής λειτουργίας του φραγμού του βλεννογόνου, οδηγεί σε μειωμένη ανοχή έναντι του κοινού μικροβιώματος στο έντερο, υπεύθυνου για την υποβοήθεια της εξέλιξης και της εμφάνισης της νόσου του Crohn και της ελκώδους κολίτιδας. (Katsuyoshi Matsuoka and Takanori Kanai 2015). Το NOD2 / CARD15 ήταν το πρώτο αναφερόμενο για νόσο του Crohn ευαίσθητο γονίδιο, με την ισχυρότερη σύνδεση. Μελέτες γονιδίων προδιάθεσης για ΙΦΝΕ, αποκάλυψαν τον ουσιαστικό ρόλο των κυττάρων ‘Paneth’ στη νόσο του Crohn. Τα κύτταρα Paneth βρίσκονται στο κάτω μέρος των εντερικών κρυπτών και ομοιάζουν με ‘κόκκους’. Οι κόκκοι αυτοί, αποτελούνται από διάφορες αντιμικροβιακές ενώσεις, καθώς και από άλλες ενώσεις οι οποίες είναι σημαντικές στην ανοσία και στην άμυνα του ξενιστή. Όταν εκτίθενται σε βακτήρια ή βακτηριακά αντιγόνα, τα κύτταρα Paneth εκκρίνουν μερικές από αυτές τις ενώσεις στον αυλό του εντερικού αδένου, συμβάλλοντας έτσι στη διατήρηση του γαστρεντερικού φραγμού. Ο σημαντικός ρόλος των κυττάρων Paneth στη ρύθμιση του μικροβιώματος του εντέρου και του εντερικού ανοσοποιητικού συστήματος, φαίνεται από την παρατήρηση ότι τα γενετικά τροποποιημένα ποντίκια που υπερεκφράζουν την α-defensin (κυτταρική πρωτεΐνη) στα

εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, είχαν μειωμένο αριθμό τμηματικών νηματοειδών βακτηρίων (SFB) στο γαστρεντερικό σωλήνα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την εξασθένηση της ανάπτυξης των 'Th17' (βοηθητικά T λεμφοκύτταρα, όπου παράγουν κυτοκίνες, οι οποίες με τη σειρά τους αναγνωρίζουν τους ξένους παθογόνους μικροοργανισμούς, ή στην περίπτωση των αυτοάνοσων νοσημάτων τους φυσιολογικούς ιστούς ως ξένους) στο έντερο (Salzman NH, et al. 2010). Ανωμαλίες στο μέγεθος, τον αριθμό και την κατανομή των κόκκων στα κύτταρα Paneth που περιέχουν AMPs (αντιμικροβιακά πεπτίδια 'antimicrobial peptides'), έχουν παρατηρηθεί στη νόσο του Crohn. Αυτές οι μορφολογικές ανωμαλίες αναφέρθηκαν συχνότερα σε ασθενείς με τη νόσο του Crohn με μεταλλάξεις των γονιδίων NOD2 ή ATG16L (VanDussen KL, et al. 2014). Τα ποντίκια που φέρουν την ίδια μετάλλαξη ATG16L με τους ασθενείς με νόσο του Crohn αναπτύσσουν παρόμοιες μορφολογικές ανωμαλίες των κυττάρων Paneth μετά από μόλυνση από νοροϊό ποντικού και γίνονται ευαίσθητοι σε κολίτιδα που προκαλείται από θειικό νάτριο δεξτράνης. Αυτά τα αποτελέσματα, παρέχουν ένα καλό παράδειγμα της πολύπλοκης αλληλεπίδρασης μεταξύ ενός γενετικού παράγοντα και ενός περιβαλλοντικού παράγοντα στην ανάπτυξη της εντερικής φλεγμονής. Τα ποντίκια με ανεπάρκεια στο Xbp1 (μεταγραφικός παράγοντας), το οποίο είναι ένα βασικό μόριο για το ενδοπλασματικό στρες του δικτύου και είναι ένα γονίδιο προδιάθεσης για τη νόσο του Crohn, έχουν επίσης εξασθενημένη επαγωγή αυτοφαγίας στα κύτταρα Paneth και αναπτύσσουν αυθόρμητη ειλεΐτιδα (Adolph TE, et al. 2013). Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η αυτοφαγία στα κύτταρα Paneth είναι κρίσιμη για τη διατήρηση της ομοιόστασης του εντέρου, πιθανώς μέσω ρύθμισης του μικροβιώματος του εντέρου από την παραγωγή AMP. Η εξασθενημένη λειτουργία Paneth κυττάρων μπορεί να είναι ένα ουσιαστικό στοιχείο στην ανάπτυξη και διαίωση της εντερικής φλεγμονής στη νόσο του Crohn. (Katsuyoshi Matsuoka and Takanori Kanai 2015).

3.3.2 Ο τρόπος με τον οποίο η δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος μπορεί να οδηγήσει σε εντερική φλεγμονή.

Λειτουργικές αλλαγές στη μικροχλωρίδα του εντέρου που προκύπτουν από τη δυσβίωση, είναι πιθανό να εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία των ΙΦΝΕ. (Eckburg PB, et al. 2005). Οι μεταβολίτες του μικροβιώματος του εντέρου συμβάλλουν στη λειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων, στην ενεργειακή ισορροπία και στο ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή. Μια μεταγονιδιωματική ανάλυση του μικροβιώματος του εντέρου έδειξε μείωση

των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για το μεταβολισμό των υδατανθράκων και των αμινοξέων και μια αύξηση αυτών που βρίσκονται στο μονοπάτι του οξειδωτικού στρες, σε ασθενείς με ΙΦΝΕ, αυξάνοντας την πιθανότητα το οξειδωτικό στρες από το μικροβίωμα του εντέρου να προκαλεί εντερική φλεγμονή σε ασθενείς με ΙΦΝΕ. (Morgan XC, et al. 2012). Το βουτυρικό οξύ, είναι μια σημαντική πηγή ενέργειας για τα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα και αυξάνει την παραγωγή βλεννίνης και AMPs (antimicrobial peptides) (Sokol H, et al. 2008). Οι συγκεντρώσεις του βουτυρικού οξέως στα κόπρανα έχει αποδειχθεί ότι μειώνονται σε ασθενείς με ΙΦΝΕ. Κατά συνέπεια, το *F. prausnitzii*, ένα είδος βακτηρίου που παράγει βουτυρικό οξύ, έχει επίσης παρατηρηθεί ότι μειώνεται στα ΙΦΝΕ. Επομένως, είναι πιθανό το μειωμένο επίπεδο βουτυρικού οξέως στο έντερο, να συμβάλλει στην πρόκληση εντερικών φλεγμονών. (Takaishi H, et al. 2008).

Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει γνωστό ότι διαφορετικά κοινά βακτήρια προκαλούν διακριτούς τύπους κολίτιδας σε ποντίκια με έλλειψη ιντερλευκίνης IL-10. Μια μελέτη μονοσυσχέτισης, στην οποία ένα μόνο στέλεχος βακτηρίων εμβολιάστηκε σε ποντίκια με έλλειψη ιντερλευκίνης IL-10 χωρίς μικρόβια, έδειξε ότι η *E.coli* προκάλεσε φλεγμονή των τυφλών, το *Enterococcus faecalis* προκάλεσε περιφερική κολίτιδα και το *Pseudomonas fluorescens* δεν προκάλεσε κολίτιδα. Αναφέρθηκε επίσης ότι η παρουσία του *Helicobacter hepaticus*, ενός είδους κοινών βακτηρίων, επιδείνωσε την κολίτιδα σε ποντίκια με έλλειψη IL-10. Αυτά τα αποτελέσματα, δείχνουν ότι η δυσβολία και η μεταβολή της σύνθεσης του μικροβιώματος του εντέρου μπορεί να προκαλέσει διακριτές εντερικές ανοσοαποκρίσεις, ακόμη και σε έναν ξενιστή με το ίδιο γενετικό υπόβαθρο, γεγονός που υποδηλώνει ότι η δυσβίωση μπορεί να ρυθμίσει την ανοσοαπόκριση στο έντερο. (Kim SC, et al. 2005).

3.3.3 Θεραπείες για τις Ιδιοπαθείς Φλεγμονώδεις Νόσους του Εντέρου, οι οποίες βασίζονται στο εντερικό μικροβίωμα.

A) Μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων:

Η μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων είναι μια θεραπεία για την αποκατάσταση της ανώμαλης μικροβιακής σύνθεσης του εντέρου με την εισαγωγή μικροβιώματος κοπράνων που λαμβάνεται από έναν υγιή δότη σε ένα ασθενές άτομο. Τα αποτελέσματα μιας τυχαιοποιημένης μελέτης για σύγκριση της μεταμόσχευσης μικροβιώματος κοπράνων, με τα αντιβιοτικά για υποτροπιάζουσα λοίμωξη από *Clostridium difficile* ήταν εντυπωσιακά. Παρατηρήθηκε εξαφάνιση της διάρροιας που σχετίζεται με το *C. difficile* σε 13 από τους

16 ασθενείς (81%) στην ομάδα όπου χορηγήθηκε το μόςχευμα μικροβιώματος κοπράνων, σε σύγκριση με τέσσερις στους 13 ασθενείς (31%) στην ομάδα των αντιβιοτικών. (van Nood E, et al. 2013). Η μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων έχει επισημανθεί ως σημαντική θεραπεία για τη διόρθωση της δυσβολίας στα ΙΦΝΕ. Η πρώτη εφαρμογή της μεταμόσχευσης μικροβιώματος κοπράνων στην ελκώδη κολίτιδα αναφέρθηκε το 1989 (Bennet JD, Brinkman M. 1989). Μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση εντόπισε 18 ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα χωρίς μόλυνση από *C. difficile*, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε θεραπεία με μεταμόσχευση μικροβιώματος κοπράνων. Δεκατρείς από τους 18 ασθενείς εμφάνισαν ύφεση των συμπτωμάτων της νόσου. (Anderson JL, et al. 2012). Επίσης, μια δοκιμή φάσης I, μεταμόσχευσης μικροβιώματος κοπράνων σε 10 παιδιατρικούς ασθενείς ελκώδους κολίτιδας, με ήπια έως μέτρια δραστηριότητα ολοκληρώθηκε το 2013, χωρίς να αναφερθούν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες και υψηλό ποσοστό κλινικής ανταπόκρισης (79%) εντός 1 εβδομάδας (Kunde S, et al. 2013). Επομένως, εάν διαταραχές στο ανθρώπινο εντερικό μικροβίωμα συσχετίζονται με την ΙΦΝΕ, τότε ενδεχομένως η θεραπευτική μεταβολή της μικροχλωρίδας μπορεί να έχει ευεργετική επίδραση σε ασθενείς με ΙΦΝΕ. Πράγματι, η χρήση της μεταμόσχευσης μικροβιώματος κοπράνων για τον έλεγχο της ενεργού ΙΦΝΕ κατέληξε σε μείωση ή πλήρη εξάλειψη των συμπτωμάτων στο 76% των ασθενών, σε διακοπή όλων των φαρμάκων έναντι της ΙΦΝΕ, επίσης στο 76%, καθώς και σε παρατεταμένη ύφεση της ενεργού νόσου στο 63% των ασθενών. (ANDERSON JL, EDNEY RJ, WHELAN K. 2012).

Υπάρχουν παρ' όλα αυτά πολλοί παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη προκειμένου να αυξηθεί το ποσοστό επιτυχίας της μεταμόσχευσης μικροβιώματος κοπράνων στα ΙΦΝΕ, όπως η κατάσταση της νόσου, η επιλογή του δότη και η τυποποίηση του πρωτοκόλλου επεξεργασίας μικροβιώματος των κοπράνων. (Atsushi Nishida, Ryo Inoue, et al. 2018).

B) Προβιοτικά:

Τα προβιοτικά είναι παρασκευάσματα που χρησιμοποιούν ζωντανά βακτήρια που μπορούν να είναι ευεργετικά για την ανθρώπινη υγεία. Αρκετές αναφορές έχουν δείξει την αποτελεσματικότητα διαφόρων προβιοτικών βακτηρίων για τις νόσους των ΙΦΝΕ. Η αποτελεσματικότητα των προβιοτικών μελετήθηκε εκτενέστερα για την ελκώδη κολίτιδα από τη νόσο του Crohn. Το VSL-3 είναι ένα λυοφιλιωμένο παρασκεύασμα που περιέχει οκτώ διαφορετικά βακτήρια γαλακτικού οξέος (*Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve*, *B. infantis* και *B.*

longum). Δύο διπλές τυφλές ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο δοκιμές έδειξαν την αποτελεσματικότητα του VSL-3 στην πρόληψη της υποτροπής σε ασθενείς με χρόνια υποτροπιάζουσα ελκώδη κολίτιδα (Gionchetti P, et al. 2000), (Mimura T, et al. 2004). Δύο τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές έδειξαν ότι η προσθήκη VSL-3 στη συμβατική θεραπεία ήταν αποτελεσματική στην επαγωγή ύφεσης σε ασθενείς με ενεργή ελκώδη κολίτιδα (Tursi A, et al. 2010), (Sood A, et al. 2009). Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το VSL-3 είναι αποτελεσματικό για την επαγωγή της ύφεσης καθώς και για τη διατήρησή της, σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα. Ο μηχανισμός της αντιφλεγμονώδους επίδρασης του VSL-3 δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός, αλλά έχει αναφερθεί αύξηση των ρυθμιστικών T κυττάρων στο έντερο και αύξηση της βλεννογονικής αλκαλικής σφιγγομυελινάσης (Soo I, et al. 2008).

3.3.4 Οι επιδράσεις της φαρμακευτικής αγωγής των Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου, στο εντερικό μικροβίωμα.

Η φαρμακευτική αγωγή των ΙΦΝΕ επηρεάζει σημαντικά τη σύνθεση του μικροβιώματος του εντέρου. Η μεσαλαζίνη μειώνει τα βακτήρια των κοπράνων και τη συγκέντρωση των προσκολλημένων στο βλεννογόνο βακτηρίων, σε σύγκριση με τους ασθενείς που δεν λαμβάνουν κάποιας μορφής θεραπεία (Andrews CN, Griffiths TA, et al. 2011), (Swidsinski A, Weber J, et al. 2005). Η μεσαλαζίνη αναστέλλει την ανάπτυξη του *Mycobacterium avium*, η οποία έχει αναφερθεί ότι συνδέεται στενά με την αιτιολογία της νόσου του Crohn (Naser SA, Sagrarsingh SR, et al. 2014). Μια άλλη μελέτη, ανέφερε ότι η μεσαλαζίνη υποβαθμίζει τη γονιδιακή έκφραση που σχετίζεται με βακτηριακή διείσδυση και αντοχή στα αντιβιοτικά των *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, κάτι τέτοιο θα μπορούσε να προωθήσει την έναρξη των ΙΦΝΕ. (Gradel KO, Nielsen HL, et al. 2009), (Schultz BM, Paduro CA, et al. 2017). Επιπλέον, η μεσαλαζίνη αναστέλλει την ανάπτυξη βακτηρίων που μειώνουν τα θειικά και καταστέλλει την παραγωγή σουλφιδίου σε ασθενείς με ΙΦΝΕ. Πράγματι, οι ασθενείς με ΙΦΝΕ που δεν χρησιμοποιούν μεσαλαζίνη έχουν υψηλότερα επίπεδα σουλφιδίου κοπράνων (Pitcher MC, Beatty ER, et al. 2000), (Edmond LM, Hopkins MJ, et al. 2003). Η θεραπεία με αντισώματα κατά του παράγοντα TNF-α (Tumor necrosis factor-α), έχει αναφερθεί ότι επηρεάζει το μικροβίωμα του εντέρου. Για παράδειγμα, η αφθονία του *F. prausnitzii*, που μπορεί να ασκήσει αντιφλεγμονώδη δράση μέσω μεταβολιτών, αυξήθηκε στους ανταποκριτές κατά τη διάρκεια της επαγωγής θεραπείας με αντισώματα αντι-TNF-α (Magnusson MK, Strid H, et al. 2016). Μια άλλη

μελέτη, ανέφερε ότι ο σχετικός αριθμός E.coli στη νόσο του Crohn, είχε μειωθεί σημαντικά, και αυτός του F. prausnitzii είχε αυξηθεί όταν μετρήθηκαν 3 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας με αντι-TNF-α αντισώματα (Busquets D, Mas-de-Xaxars T, et al. 2015). Ακόμη μία μελέτη, ανέφερε ότι η χρήση θειοπουρίνης μείωσε σημαντικά τη βακτηριακή ποικιλομορφία και τον πλούτο του εντερικού μικροβιώματος σε δείγματα κοπράνων ατόμων με ΙΦΝΕ σε σύγκριση με άλλα φάρμακα, συμπεριλαμβανομένων των αντισωμάτων αντι-TNF-α, μεσαλαζίνης και κορτικοστεροειδών (Wills ES, Jonkers DM, et al. 2014). Τα αξιόπιστα παρ' όλα αυτά στοιχεία συνεχίζουν να είναι φτωχά. Επιπλέον, παραμένει άγνωστο εάν η αλλαγή του μικροβιώματος στο έντερο είναι αποτέλεσμα της φαρμακευτικής αγωγής ή συνέπεια της βελτίωσης της κατάστασης της εντερικής φλεγμονής. Εν κατακλείδι, το μικροβίωμα του εντέρου, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των θεραπειών για ΙΦΝΕ. Στο μέλλον, οι επιπλέον ανακαλύψεις στον τομέα του μικροβιώματος του εντέρου σίγουρα θα συμβάλουν στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών στα νοσήματα των ΙΦΝΕ. (Atsushi Nishida, Ryo Inoue, et al. 2018).

3.4 Η εμπλοκή του εντερικού μικροβιώματος στη δυσανεξία της γλυκόζης, προερχόμενης από οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα.

Τα οργανοφωσφορικά είναι τα πιο συχνά και σε μεγάλο βαθμό εφαρμοζόμενα εντομοκτόνα στον κόσμο, λόγω της βιοαποικοδομήσιμης φύσης τους. Το μικροβίωμα του εντέρου αποδείχθηκε ότι αποικοδομεί τα οργανοφωσφορικά και προκαλεί εντερική δυσλειτουργία. (Harishankar MK, Sasikala C, Ramya M. 2013). Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε, παρατηρήθηκε ότι η χρόνια θεραπεία ποντικών με οργανοφωσφορικά για 180 ημέρες επιβεβαιώνει την πρόκληση δυσανεξίας στη γλυκόζη. Οι ενδοεντερικές και μεταβολικές αναλύσεις του ξενιστή, αποκαλύπτουν ότι η αποδόμηση του μικροβιακού οργανοφωσφορικού εντέρου, παράγει λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου όπως το οξικό οξύ, το οποίο προκαλεί γλυκονογένεση και ως εκ τούτου ευθύνεται για τη δυσανεξία στη γλυκόζη. Τα υπολείμματα οργανοφωσφορικού πλάσματος συσχετίζονται θετικά με τη δραστηριότητα εστεράσης κοπράνων και το επίπεδο οξικού διαβήτη στον άνθρωπο. (Ganesan Velmurugan, et al. 2017). Η μελέτη των Ganesan Velmurugan et al. εμπλέκει τη γλυκονογένεση ως τον βασικό μηχανισμό πίσω από την υπεργλυκαιμία που προκαλείται από τα οργανοφωσφορικά, με τη μεσολάβηση του δυναμικού της αποικοδόμησης των

οργανοφωσφορικών μικροβίων του εντέρου. (Ganesan Velmurugan, et al. 2017). Το 1962, η Carson όρισε τα οργανοφωσφορικά ως μια από τις πιο δηλητηριώδεις χημικές ουσίες του κόσμου (Carson R. 1962). Τα οργανοφωσφορικά αναστέλλουν την ακετυλοχολίνη εστεράση (AChE), η οποία με τη σειρά της προκαλεί συνάψεις νευρικών και μυϊκών συστημάτων που οδηγούν σε διέγερση, υπερσυσσωμάτωση, σπασμούς, αναπνευστική ανεπάρκεια και τελικά θάνατο εντόμων και θηλαστικών. Ωστόσο, διάφορες μελέτες σε ζώα (Rahimi R, Abdollahi M. A 2007), (Velmurugan G, Babu DDV, Ramasamy S. 2012) και σε ανθρώπους (Montgomery MP, Kamel F, et al. 2008), (Swaminathan K. 2010) έχουν αποκαλύψει τη σχέση μεταξύ της έκθεσης σε οργανοφωσφορικά και του διαβητικού επιπολασμού. Τα μικροβιακά μεταβολιστικά οργανοφωσφορικά έχουν αναγνωριστεί στο έδαφος και σε άλλα περιβάλλοντα και τα βακτήρια του εντέρου αποδείχθηκε ότι αποικοδομούν τα οργανοφωσφορικά (Harishankar MK, Sasikala C, Ramya M. 2013). Η χρόνια έκθεση σε οργανοφωσφορικά προκαλεί μικροβιακή δυσβίωση του εντέρου και εντερικές δυσλειτουργίες (Vismaya, Rajini PS. 2014).

Η αναστολή της εστεράσης της ακετυλοχολίνης AChE είναι ο πρωταρχικός τρόπος δράσης των οργανοφωσφορικών (Fukoto TR. 1990). Στη μελέτη των Ganesan Velmurugan et al. (Ganesan Velmurugan, et al. 2017), τόσο οι άνθρωποι όσο και τα ποντίκια που εκτίθενταν σε χρόνια χρήση οργανοφωσφορικών, παρουσίασαν υπεργλυκαιμία, αλλά δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στο επίπεδο της δράσης της εστεράσης της ακετυλοχολίνης AChE στο πλάσμα. Τα ξενοβιοτικά αναφέρθηκαν επίσης ότι μεταβάλλουν το μικρόβιο του εντέρου και επηρεάζουν τη φυσιολογία και την παθολογία των θηλαστικών (Haiser HJ, Gootenberg DB, 2013), (Cho I, Blaser MJ. 2012). Στη μελέτη των Ganesan Velmurugan et al. αναλύθηκε η επίδραση του μικροβιώματος του εντέρου στη δυσανεξία της γλυκόζης που προκαλείται από τα οργανοφωσφορικά. Πραγματοποιήθηκε μεταμόσχευση κοπράνων η οποία εκτελέστηκε σε τυχαία επιλεγμένα ζώα (ποντίκια), για επτά ημέρες χρησιμοποιώντας δείγματα κοπράνων που συλλέχθηκαν από ζώα ‘μάρτυρες’ και ζώα ‘ασθενείς’. Τα ζώα διατηρήθηκαν σε παρόμοια περιβάλλοντα, αλλά σε διαφορετικούς θαλάμους για να αποφευχθεί η διασταυρούμενη μόλυνση. Οι δέκτες του μικροβιώματος κοπράνων από ζώα που τρέφονταν με MCP-οργανοφωσφορικά, εμφάνισαν σημαντική δυσανεξία στη γλυκόζη, σε σύγκριση με τους αποδέκτες του μικροβιώματος της ομάδας ελέγχου. Τα πειράματα επαναλήφθηκαν δύο φορές και δεν παρατηρήθηκε σημαντική διακύμανση μεταξύ των παρτίδων. Για να ελεγχθεί περαιτέρω εάν αυτή η επαγωγή δυσανεξίας στη γλυκόζη είναι ειδική για τα MCP-οργανοφωσφορικά ή συχνή σε όλα τα

οργανοφωσφορικά, περιττώματα από τυχαία επιλεγμένα ποντίκια καλλιιεργήθηκαν αναερόβια παρουσία MCP-μονοχρώτοπο, CHL-χλωροφύριο, MAL-μαλάνθιο ή M.PAR-μεθυλοπαράθιο και στη συνέχεια τα ποντίκια τρέφονταν με αυτές τις καλλιέργειες. Αυτή η μεταμόσχευση καλλιέργειας, είχε ως αποτέλεσμα τον αναδιπλασιασμό της κατάστασης δυσανεξίας στη γλυκόζη. (Ganesan Velmurugan, et al. 2017). Εκτός του MAL, όλα τα άλλα φυτοφάρμακα MCP, CHL και M.PAR προκάλεσαν σημαντική δυσανεξία στη γλυκόζη, το οποίο είναι σύμφωνο και σε ανθρώπινα δεδομένα (Ganesan Velmurugan, et al. 2017). Μαζί, αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το μικροβίωμα του εντέρου παίζει αναπόφευκτο ρόλο στην πρόκληση δυσανεξίας στη γλυκόζη από τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα και φαίνεται πως υπάρχει ένας ενιαίος μηχανισμός δράσης ανάμεσα στα περισσότερα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα. (Ganesan Velmurugan, et al. 2017).

Συμπεράσματα κεφαλαίου:

Αναγνωρίζεται το γεγονός ότι το εντερικό μικροβίωμα παίζει σημαντικό, έως και καταλυτικό, ρόλο στην πορεία των τροφικών δυσανεξιών. Όσον αφορά τη δυσανεξία στη λακτόζη, από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, αναγνωρίστηκε ότι η κατανάλωση προβιοτικών και δει των στελεχών *Lactobacillus bulgaricus* και *Streptococcus thermophiles*, συμβάλλουν θετικά στην αντιμετώπιση της διαταραχής, βοηθώντας στην ανακούφιση των συμπτωμάτων, καθώς και στην καλύτερη πέψη του γάλακτος. (Round JL, Mazmanian SK. 2009). Επιπλέον, ο γαλακτοολιγοσακχαρίτης υψηλής καθαρότητας GOS, φάνηκε να έχει αποτέλεσμα στο να επιφέρει προσαρμοστικές αλλαγές στο εντερικό μικροβίωμα, καθώς επίσης φάνηκε να δρα θετικά ως προς τη βελτίωση στα κλινικά συμπτώματα της δυσανεξίας της λακτόζης. (M. Andrea Azcarate-Peril, Andrew J. et al. 2017). Η σύνθεση προβιοτικών βακτηρίων επίσης, που περιέχουν *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium breve*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* και *Bifidobacterium infantis*, βελτιώνουν τα συμπτώματα μετεωρισμού και φουσκώματος σε ασθενείς με δυσανεξία στη λακτόζη. (Yuce O., Kalayci A.G., et al. 2016).

Όσον αφορά τη δυσανεξία στη γλουτένη και δει στην κοιλιοκάκη, το εντερικό μικροβίωμα φάνηκε να έχει άμεση συσχέτιση μιας και αποδείχθηκε πως η χρήση αντιβιοτικών συσχετίστηκε με εντερική δυσβίωση, μειωμένη μικροβιακή ποικιλότητα κοπράνων και πρόωμη έναρξη κοιλιοκάκης. Η σχετιζόμενη με τα αντιβιοτικά δυσβολία, έδειξε

μειωμένους αριθμούς *Bifidobacterium longum* και αυξημένους αριθμούς *Bacteroides fragilis* (Pozo-Rubio T., de Palma G., et al. 2013). Η κοιλιοκάκη συσχετίστηκε με μειωμένους αριθμούς *Bifidobacteria*, υποστηρίζοντας την υπόθεση ότι η δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για κοιλιοκάκη (De Palma G., Nadal I., et al. 2010). Μελέτες του μικροβιώματος του εντέρου (βιοψίες κοπράνων και δωδεκαδακτύλου) αποκάλυψαν ότι οι *Lactobacilli* και τα *Bifidobacteria* μειώνουν τα συμπτώματα σε ασθενείς με κοιλιοκάκη σε δίαιτα ελεύθερη γλουτένης (Lorenzo Pisarello M.J., Vintiñi E.O., et al. 2015).

Όσον αφορά τα ΙΦΝΕ, έπειτα από μελέτες, τονίστηκε η συμμετοχή του μικροβιώματος του εντέρου στην παθοφυσιολογία των φλεγμονώδων νόσων του εντέρου. Αρκετές ενδείξεις μάλιστα, αναγνωρίζουν τον ουσιαστικό ρόλο του μικροβιώματος του εντέρου στην εντερική φλεγμονή. (Rutgeerts P, et al. 1991). Αρκετές μελέτες, έχουν δείξει τη δυνατότητα χρήσης του μικροβιώματος του εντέρου ως διαγνωστικό εργαλείο ή ως βιοδείκτη για τη δραστηριότητα της νόσου, την πρόγνυσή της, ακόμη και την ανταπόκρισή της στη θεραπεία. (Katsuyoshi Matsuoka and Takanori Kanai 2015). Επιπροσθέτως, έχει δειχθεί ότι η δυσβολία και η μεταβολή της σύνθεσης του μικροβιώματος του εντέρου μπορεί να προκαλέσει διακριτές εντερικές ανοσοαποκρίσεις, γεγονός που υποδηλώνει ότι η δυσβίωση μπορεί να ρυθμίσει την ανοσοαπόκριση στο έντερο. (Kim SC, et al. 2005). Ενθαρρυντικό γεγονός αποτελούν η μεταμόσχευση εντερικού μικροβιώματος καθώς και η χρήση προβιοτικών, τα οποία φάνηκε να έχουν σχετισθεί θετικά όσον αφορά την καλύτερη έκβαση της νόσου ασθενών που πάσχουν από ΙΦΝΕ. (ANDERSON JL, EDNEY RJ, WHELAN K. 2012), (Gionchetti P, et al. 2000), (Mimura T, et al. 2004).

Όσον αφορά τη δυσανεξία στη γλυκόζη προερχόμενη από οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα, αποδείχθηκε ότι το εντερικό μικροβίωμα παίζει και εδώ, σημαντικό και αναπόφευκτο ρόλο στην πρόκληση δυσανεξίας στη γλυκόζη από τα φυτοφάρμακα αυτά. (Ganesan Velmurugan, et al. 2017). Συνεχίζοντας, αποκαλύπτεται η συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με τις διάφορες τροφικές και μη, αλλεργίες.

Κεφάλαιο 4: Εντερικό μικροβίωμα και διάφορες τροφικές και μη αλλεργίες.

4.1 Το εντερικό μικροβίωμα και η αλλεργία στα φιστίκια.

Η τροφική αλλεργία μπορεί να εμφανιστεί στο 6-8% του πληθυσμού των παιδιών μέχρι την ηλικία των τριών ετών και στο 2% του πληθυσμού των ενήλικων ατόμων. Το 50% των παιδιών με τροφικές αλλεργίες, τις ξεπερνούν έως την ηλικία των έξι ετών. Αν συνεχίσουν όμως να είναι αλλεργικά έως την ηλικία των 12 ετών, η πιθανότητα να ξεπεράσουν την αλλεργία είναι μικρότερη του 8%. Ωστόσο, δεν συμβαίνει το ίδιο και στην περίπτωση που κάποιο άτομο είναι αλλεργικό στους ξηρούς καρπούς, μιας και η πιθανότητα να ξεπεραστεί η αλλεργία στα φιστίκια υπολογίζεται στο 20% ενώ στους υπόλοιπους ξηρούς καρπούς στο 9%. (Savage J., Sicherer S. & Wood R., 2016). Πρόσφατη έρευνα σε ανθρώπους και τρωκτικά έχει δείξει τις πιθανές συσχετίσεις μεταξύ της χρήσης αντιβιοτικών και της ανάπτυξης τροφικών, αναπνευστικών ή δερματικών αλλεργιών (Russell SL, Gold MJ, et al. 2013), (Kuo CH, Kuo HF, et al. 2013). Δεδομένου ότι το μικροβίωμα του εντέρου αλληλεπιδρά με το ανοσοποιητικό σύστημα για τη ρύθμιση της ωρίμανσης των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, οι μεταβολές από την πρόωμη κιάλας ζωή του μικροβιώματος του εντέρου, μπορεί να έχουν ανοσορυθμιστική επίδραση στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και στις αποκρίσεις που εμπλέκονται στον προσδιορισμό της ευαισθησίας στην αλλεργία στα φιστίκια (Cao S, Feehley TJ, et al. 2014), (Feehley T, Stefka AT, et al. 2012). Αρκετές μελέτες για τις αλλεργίες στα φιστίκια έχουν εμφανιστεί τα τελευταία χρόνια. Αυτές οι μελέτες-μοντέλα διαφέρουν ως προς τη χρήση του στελέχους ποντικού, της οδού χορήγησης του αντιγόνου-ανοσοενισχυτικού (στοματική κοιλότητα, επιδερμικά), τη χρήση ανοσοενισχυτικών, τον αριθμό των ενέσεων ευαισθητοποίησης, τις δόσεις αντιγόνου που χρησιμοποιήθηκαν και τα αλλεργικά αποτελέσματα που αξιολογήθηκαν (Li XM, Serebrisky D, et al. 2000), (Sun J, Arias K, et al. 2007).

Πολλά μοντέλα μελέτης της αλλεργίας στα φιστίκια χρησιμοποιούν από του στόματος καθετήρα σε ποντίκια για τη χορήγηση του αντιγόνου των φυσιτικών και χρησιμοποιούν την τοξίνη χολέρας ως ανοσοενισχυτικό για την ευαισθητοποίηση των ποντικών, καθώς

και για να ευνοηθεί η ανταπόκριση των T λεμφοκυττάρων (Th2) στις αλλεργικές αντιδράσεις. (Berin MC, Mayer L. 2009), (Oyoshi MK, Oettgen HC, et al. 2014). Από έρευνες, επίσης σε ποντίκια, έχει αποδειχθεί ότι ο παράγοντας TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α), παίζει ρόλο στην ανάπτυξη αλλεργιών μέσω φλεγμονωδών διεργασιών στο επιθηλιακό φράγμα του εντέρου. Έτσι, ένα μοντέλο αλλεργίας στα φιστίκια, που χρησιμοποιεί αυτήν την πρωτεΐνη ως ανοσοενισχυτικό μπορεί να αντιπροσωπεύει ένα κλινικά πιο σχετικό μοντέλο που ανακεφαλαιώνει με μεγαλύτερη ακρίβεια ορισμένα στοιχεία της φάσης επαγωγής των αλλεργιών των ανθρώπων, στα φιστίκια. Τα δεδομένα της έρευνας των Rozlyn C. T. Boutin et al. υποδηλώνουν ότι όταν χορηγείται ταυτόχρονα με τα φιστίκια κατά τη διάρκεια της φάσης ευαισθητοποίησης, ο παράγοντας TNF-α, τότε δρα ως αποτελεσματικό ανοσοενισχυτικό. (Rozlyn C. T. Boutin, Zach Dwyer, et al.2018). Στην έρευνά τους παρατηρήθηκαν κάποιοι αλλεργικοί φαινότυποι (πρήξιμο στο αυτί και κνησμός) σε ποντίκια έπειτα από εισαγωγή φυστικίων στην τροφή τους, όπου μπορεί να οφείλεται σε αυξημένο αρχικό φλεγμονώδη τόνο λόγω αύξησης των πρωτεοβακτηρίων, ή εναλλακτικά, στην απώλεια των βακτηριδίων του γένους Clostridia στο έντερο των ποντικών που έλαβαν αντιβιοτικά. (Rozlyn C. T. Boutin, Zach Dwyer, et al.2018).

Επιπλέον, οι Stefka et al. στο παρελθόν έδειξαν ότι το γένος Clostridia που βρέθηκε στην μικροβιακή χλωρίδα, διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην προστασία έναντι των αλλεργιών στα φιστίκια αυξάνοντας την έκκριση της ανοσοσφαιρίνης IgA και προκαλώντας έκκριση εντερικού επιθηλιακού κυττάρου T-κυττάρου και της πρωτεΐνης ιντερλευκίνη IL-12, για τη βελτίωση της ακεραιότητας του φραγμού της εντερικής μεμβράνης, καθώς και τη μείωση της διαπερατότητάς του στα αντιγόνα (Stefka AT, Feehley T, et al.2014).

Συνολικά, τα ευρήματα, μας παρέχουν αποδείξεις για τη χρησιμότητα του TNF-α ως ανοσοενισχυτικού σε ένα μοντέλο ποντικών με αλλεργία στα φιστίκια και συνάδουν με την υπόθεση ότι η πρόληψη τους σε αντιβιοτικά μεταβάλλει τον μικροβιακό αποικισμό του εντερικού σωλήνα, κάνοντάς τα πιο ευαίσθητα στην εμφάνιση αλλεργικών συμπτωμάτων (Tsabouri S, Priftis KN, et al. 2013) και αυτό σχετίζεται με πρήξιμο στο αυτί και κνησμό, μετά από μετέπειτα πρόκληση του ενδοδερμικού αντιγόνου των φυστικίων. (Rozlyn C. T. Boutin, Zach Dwyer, et al.2018).

4.2 Η συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με την εμφάνιση του αλλεργικού άσθματος.

Το άσθμα είναι μια από τις πιο συχνές χρόνιες αναπνευστικές ασθένειες παγκοσμίως. Επηρεάζει όλες τις ηλικίες αλλά συχνά ξεκινά από την παιδική ηλικία. Πρόκειται για μια χρόνια φλεγμονώδη διαταραχή των κάτω αεραγωγών που χαρακτηρίζεται από συριγμό, δύσπνοια, σφίξιμο στο στήθος και βήχα, η οποία μπορεί να ποικίλλει με την πάροδο του χρόνου στην εμφάνιση, τη συχνότητα και τη σοβαρότητά της (Mathew J., Aronow W.S., et al. 2012). Τα συμπτώματα σχετίζονται με μεταβλητή αναπνευστική ανεπάρκεια ροής αέρα, δηλαδή δυσκολία στην αναπνοή με παρατεταμένη λήξη λόγω βρογχοσυστολής (στένωση των αεραγωγών), πάχυνση των τοιχωμάτων των αεραγωγών και αυξημένη παραγωγή βλεννογόνου. Οι επιδημιολογικές μελέτες έχουν εκτιμήσει ότι 250.000 θάνατοι μπορούν να συνδεθούν με αυτήν την ασθένεια κάθε χρόνο και περισσότεροι από 600 εκατομμύρια άνθρωποι έχουν συμπτώματα που σχετίζονται με το άσθμα (Mathew J., Aronow W.S., et al. 2012). Η έναρξη και η επιδείνωση του άσθματος μπορεί να εξαρτάται από την ατομική ευαισθησία, τις ιογενείς λοιμώξεις, την έκθεση σε αλλεργιογόνα, την έκθεση στον καπνό καθώς και την ατμοσφαιρική ρύπανση του περιβάλλοντος (Forno E., Celedon J.C. 2012). Τα πιο συνηθισμένα αλλεργιογόνα που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και την επιδείνωση του άσθματος είναι τα ακάρεα σκόνης, το γρασίδι, η γύρη δέντρων, τα επιθηλιακά ζώα, οι μύκητες και η μούχλα (Plunkett C.H., Nagler C.R. 2017).

Η “υπόθεση υγιεινής” ήταν η πρώτη που πρότεινε τη σύνδεση μεταξύ των μικροβίων και των αλλεργιών (Stiemsma L.T., Turvey S.E. 2017). Πρόσφατα, η αρχική ιδέα της “υπόθεσης υγιεινής” επεκτάθηκε ώστε να συμπεριλάβει την αύξηση της χρήσης αντιβιοτικών και των εμβολιασμών, καθώς και άλλες αλλαγές στον τρόπο ζωής, οι οποίες έχουν μειώσει τις παιδικές μολύνσεις και άλλαξαν το μικροβίωμα. (Bloomfield S.F., Rook G.A., et al. 2016). Ένα άλλο σημαντικό ζήτημα είναι η αλλαγή της σύγχρονης διατροφής που πλέον βασίζεται σε υψηλά επίπεδα λίπους και χαμηλά επίπεδα ινών, η οποία έχει βαθιές συνέπειες στη σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος. (Bäckhed F., Roswall J., et al. 2015). Συνεχίζοντας, όπως έχει προαναφερθεί, ο χρόνος και ο τρόπος τοκετού, η διατροφή, η νοσηλεία, ο δείκτης μάζας σώματος, η κοινωνικοοικονομική κατάσταση, ο θηλασμός και η χρήση αντιβιοτικών επηρεάζουν την ανάπτυξη του μικροβιώματος του βρέφους. Η μακροχρόνια σταθερότητα για πολλά είδη μικροβίων ξεκινά από την ηλικία των δύο περίπου ετών. Ο πρώιμος μικροβιακός αποικισμός παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη τόσο του έμφυτου όσο και του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος και υπάρχουν αρκετοί προτεινόμενοι μηχανισμοί για να εξηγήσουν πώς οι μεταβολές του μικροβιώματος θα μπορούσαν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη της αλλεργικής νόσου. Αν

και μερικές μελέτες έχουν εντοπίσει αξιοσημείωτες σχέσεις μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος και την ανάπτυξη του άσθματος, της αλλεργικής ρινίτιδας και του εκζέματος, δεν υπάρχουν συγκεκριμένες μελέτες που εξετάζουν το μικροβίωμα στην ανθρώπινη τροφική αλλεργία. Καθώς όμως η τεχνολογία και η γνώση του μικροβιώματος εξελίσσεται, οι ανακαλύψεις στην τροφική αλλεργία και την ατοπική ασθένεια πιθανότατα θα παρέχουν πληροφορίες για τις πρωταρχικές στρατηγικές πρόληψης και θεραπείας. (Aagaard K., Ma J., et al. 2014).

Αν και το μικροβίωμα του εντέρου συμβάλλει στη δημιουργία των T ρυθμιστικών λευκοκυττάρων-Tregs και πιθανώς επηρεάζει την ευαισθησία στα από του στόματος αλλεργιογόνα (μέσω της τροφής), το άσθμα πιστεύεται ότι προέρχεται κυρίως από την εισπνοή, καθιστώντας τον πνεύμονα (και το μικροβίωμά του) πιο σχετικό για την έναρξη του άσθματος. Η διαφορετική σύνθεση του μικροβιώματος του πνεύμονα μεταξύ ασθματικών και υγιών ανθρώπων υποδηλώνει ότι τα βακτήρια μπορεί να συμβάλλουν στην έναρξη του άσθματος, υποδεικνύοντας επίσης έναν πιθανό σημαντικό ρόλο στην επίδραση των ανοσολογικών αποκρίσεων για τα μικροβιώματα που κατοικούν και σε άλλες περιοχές, μία από αυτές όπως είναι και το έντερο (Penders J., Stobberingh E.E., et al. 2007). Έτσι, ενώ το μικροβίωμα του αεραγωγού έχει αποτελέσει το επίκεντρο των μελετών περί άσθματος, ένα αυξανόμενο τμήμα επιδημιολογικής και μικροβιολογικής βιβλιογραφίας υποστηρίζει την υπόθεση ότι η γένεση της αλλεργικής νόσου και κατά επέκταση της ανάπτυξης του άσθματος, μπορεί να βρίσκεται, τουλάχιστον εν μέρει, στις κοινότητες των μικροβίων που υπάρχουν και στο γαστρεντερικό σωλήνα. Η υποστήριξη για αυτό το φαινόμενο προέρχεται από παράγοντες που έχουν αναγνωριστεί ότι σχετίζονται με την ανάπτυξη αλλεργικών ασθενειών από την παιδική κιόλας ηλικία. (Stiemsma L.T., Turvey S.E. 2017). Αυτό οδήγησε στην ιδέα του «άξονα εντέρου-πνεύμονα».

Οι Stiemsma et al. μελέτησαν έναν πληθυσμό παιδιών που είχαν διαγνωστεί με άσθμα στην προσχολική ηλικία στα οποία βρήκαν ενδείξεις βακτηριακής δυσβολίας του εντέρου (Stiemsma L.T., Turvey S.E. 2017). Συγκεκριμένα, η μείωση του *Lachnospira* υπέρ του *Clostridium spp.* πιθανώς συνδέθηκε με το άσθμα. Η μεμονωμένη αντίθετη αλλαγή στην αφθονία των *Lachnospira* και *Clostridium neonatale* τους πρώτους τρεις μήνες της ζωής υποδηλώνει ότι αυτά τα συγκεκριμένα βακτήρια του εντέρου παίζουν ρόλο στην προστασία ή την προώθηση της ανάπτυξης του ασθματικού φαινοτύπου παιδιών προσχολικής ηλικίας. Αυτή η βακτηριακή δυσβολία επιβεβαιώθηκε και σε άλλες μελέτες

της ίδιας ομάδας επιστημόνων, στις οποίες έδειξαν τη σχετική αφθονία των βακτηριακών γενών *Lachnospira* και τη μείωση των *Veillonella*, *Faecalibacterium* και *Rothia* σε παιδιά που διατρέχουν κίνδυνο άσθματος. (Stiemsma L.T., Turvey S.E. 2017), (Arrieta M.C., Sadarangani M., 2016). Αυτή η μείωση συνοδεύτηκε από μειωμένα επίπεδα οξέων στα κόπρανα και δυσλειτουργία των εντεροηπατικών μεταβολιτών. Ο εμβολιασμός αξενικών ποντικών (δίχως μικροοργανισμούς) με αυτά τα τέσσερα βακτήρια βελτίωσε τη φλεγμονή των αεραγωγών (Vael C., Vanheirstraeten L., et al. 2011). Τα *Clostridium spp.* εμπλέκονται στον αυξημένο κίνδυνο άσθματος και σε πολλές άλλες μελέτες (Penders J., Thijs C., et al. 2007), (Van Nimwegen F.A., Penders J., et al. 2011), (Björkstén B., Sepp E., et al. 2001). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι τα παιδιά ενός έτους με ανώριμη μικροβιακή σύνθεση έχουν αυξημένο κίνδυνο άσθματος έως την ηλικία των πέντε ετών. Αντιστρόφως, η κατάλληλη ωρίμανση του μικροβιώματος του εντέρου σε αυτήν την ηλικιακή περίοδο φαίνεται να μπορεί να προστατεύσει αυτά τα παιδιά από την ανάπτυξη αλλεργικού άσθματος (Stokholm J., Blaser M.J., et al. 2018).

4.3 Η δυσβίωση του εντερικού μικροβιώματος και η συσχέτιση αυτής με την αλλεργική ρινίτιδα σε παιδιά.

Οι αλλεργικές ασθένειες των αεραγωγών όπως είναι η ρινίτιδα, είναι συχνές χρόνιες φλεγμονώδεις διαταραχές που αποτελούν μείζον ζήτημα υγείας από την παιδική κιόλας ηλικία. Αρκετοί κοινωνικοδημογραφικοί και μεμονωμένοι παράγοντες σχετίζονται σημαντικά με ατοπικά συμπτώματα και ασθένειες. (Chiu C.Y., Huang Y.L., Tsai M.H. 2014), (Ehrlich R.I., Du Toit D., Jordaan E. 1996), (Herzog R., Cunningham-Rundles S. 2011). Η ευαισθητοποίηση σε αλλεργιογόνα είναι γνωστό πως είναι ένας σημαντικός παράγοντας στις ατοπικές παθήσεις της παιδικής ηλικίας. (Host A., Andrae S., Charkin S. 2003). Οι ξενιστές και τα μικρόβιά τους έχουν αναπτύξει συμβιωτικές σχέσεις και αυτή η σχέση έχει εμπλακεί στη ρύθμιση της ανοσίας και της φλεγμονής του βλεννογόνου και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις αλλεργικές παθήσεις των αεραγωγών. Υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις, οι οποίες συνδέουν τις μεταβολές της μικροβιακής σύνθεσης του εντέρου κατά τη διάρκεια της πρώιμης βρεφικής ηλικίας με την ανάπτυξη ατοπικών ασθενειών και άσθματος. Ωστόσο, λίγες μελέτες έχουν ασχοληθεί με τη συσχέτιση του μικροβιώματος του δυσβιοτικού εντέρου με τις αλλεργικές αντιδράσεις μέσω της αξιολόγησης κοπράνων σε μικρά παιδιά με αλλεργικές παθήσεις των αεραγωγών. Γι'

αυτό, οι Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan et al. επεδίωξαν να αξιολογήσουν τις σχέσεις μεταξύ των μικροβίων του εντέρου, των συνολικών επιπέδων ανοσοσφαιρίνης κοπράνων E (IgE), της ευαισθητοποίησης σε αλλεργικούς ορούς και της συνάφειάς τους με την παιδική αλλεργική ρινίτιδα καθώς και το άσθμα. (Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, et al. 2019).

Η μικροβιακή σύνθεση και η ποικιλομορφία αναλύθηκαν με αλληλουχία γονιδίου 16S rRNA, 89 δειγμάτων κοπράνων που συλλέχθηκαν από παιδιά με άσθμα (35 άτομα) και αλλεργική ρινίτιδα (28 άτομα), και από υγιείς μάρτυρες (26 άτομα). (Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, et al. 2019). Η ανοσοσφαιρίνη ορού E (IgE) είναι ένα αντίσωμα που παράγεται ως απόκριση στην αλλεργία. Η ανοσοσφαιρίνη IgE παράγεται επίσης τοπικά στο έντερο ως αποτέλεσμα της διέγερσης από αλλεργιογόνα τροφίμων και χρησιμεύει ως δείκτης ευαισθητοποίησης των τροφίμων. Μια λεπτομερής κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ της εξωτερικής έκθεσης σε αλλεργιογόνα, της μικροβιακής ποικιλομορφίας του εντέρου και της ανοσοανεπάρκειας του ξενιστή, πιθανότατα παρέχει πολύτιμες κλινικές γνώσεις σχετικά με τις θεραπευτικές στρατηγικές για τη ρύθμιση του μικροβιώματος του εντέρου σε αλλεργικές παθήσεις των αεραγωγών, όπως είναι η αλλεργική ρινίτιδα. (Kolmannskog S., Haneberg B. 1985).

Στην έρευνα των Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan et al., πραγματοποιήθηκε μια ελεγχόμενη cross-sectional έρευνα και έγινε μελέτη ώστε να διερευνηθεί το προφίλ του μικροβιώματος του εντέρου σε παιδιά με άσθμα, αλλεργική ρινίτιδα καθώς και σε υγιείς μάρτυρες. Αυτή η μελέτη παρέχει στοιχεία ότι οι μεταβολές στη σύνθεση του μικροβιώματος του εντέρου συσχετίζονται με αλλεργικές αντιδράσεις σε αντιγόνα που συμβάλλουν σε παιδικές αλλεργικές παθήσεις των αεραγωγών. Παιδιά ηλικίας μεταξύ τεσσάρων και επτά ετών που διαγνώστηκαν μόνο με άσθμα ή μόνο με ρινίτιδα και υγιείς μάρτυρες, προσλήφθηκαν διαδοχικά από την 1^η Νοεμβρίου του 2015 έως την 31^η Οκτωβρίου του 2017 για τη μελέτη αυτή. Οι φαινότυποι των ατοπικών παθήσεων διαγνώστηκαν από ιατρό και αξιολογήθηκαν από τον παιδιατρικό πνευμονολόγο. Αποκλείστηκαν τα παιδιά τα οποία παρουσιάζουν συνδυασμό άσθματος και ρινίτιδας κατά τη διάγνωση. Η αλλεργική ρινίτιδα συγκεκριμένα, διαγνώστηκε ότι είχε συμπτώματα όπως φτέρνισμα, ρινική συμφόρηση, κνησμό και ρινόρροια τους τελευταίους δώδεκα μήνες. (Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, et al. 2019). Στην έρευνα που πραγματοποιήθηκε, τα φρέσκα κόπρανα συλλέχθηκαν σε καθαρά μπουκάλια δείγματος από τους γονείς του κάθε παιδιού. Τα δείγματα κοπράνων καταψύχθηκαν αμέσως και μεταφέρθηκαν προσεκτικά

στο εργαστήριο, όπου αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την περαιτέρω χρήση τους. Κανένα από τα άτομα δεν είχε λάβει αντιβιοτικά για τουλάχιστον τέσσερις εβδομάδες πριν από τη δειγματοληψία. Το βακτηριακό DNA εκχυλίστηκε με την ίδια ποσότητα περιττωμάτων (0,5g) από τα δείγματα. (Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, et al. 2019). Οι ατοπικοί δείκτες συμπεριλαμβανομένων των συνολικών επιπέδων ανοσοσφαιρίνης IgE κοπράνων και των ολικών επιπέδων ανοσοσφαιρίνης IgE ορού και *D. pteronyssinus* ήταν σημαντικά υψηλότεροι στα παιδιά με άσθμα και ρινίτιδα από ότι στους υγιείς μάρτυρες. Η ταξινόμηση έδειξε υψηλό επιπολασμό των μελών του φύλου Firmicutes (67,8% του συνολικού αριθμού των ακολουθιών που ελήφθησαν) ακολουθούμενα από αυτά των φύλων Actinobacteria (20,7%), Bacteroidetes (8,4%), Proteobacteria (2,7%) και άλλα. Τα *Bifidobacterium* (17,6%), *Blautia* (13,0%), *Faecalibacterium* (9,1%), *Ruminococcus* (7,9%) και *Bacterioides* (6,3%), ήταν τα πέντε πιο κυρίαρχα γένη. Τα συνολικά επίπεδα ανοσοσφαιρίνης IgE κοπράνων και αλλεργιογόνων αναλύθηκαν και συσχετίστηκαν. Οι μικροοργανισμοί που βρέθηκαν να εμπλέκονται στο άσθμα και τη ρινίτιδα συσχετίστηκαν στη συνέχεια με τα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης IgE ειδικά για τα κόπρανα και τα αλλεργιογόνα στον ορό. Τα γένη *Clostridium spp.* και *Escherichia spp.* συσχετίστηκαν σημαντικά θετικά με τα επίπεδα ανοσοσφαιρινών IgE, *D. farinae* και *D. pteronyssinus*, αντίστοιχα. Επιπλέον, βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ του γένους *Clostridium spp.* και συνολικά επίπεδα ανοσοσφαιρίνης IgE κοπράνων, ενώ βρέθηκε αρνητικός συσχετισμός μεταξύ του γένους *Dorea spp.* και των επιπέδων ανοσοσφαιρίνης IgE κοπράνων. (Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, et al. 2019).

Πρόσφατες μελέτες έχουν επίσης βρει ότι η μειωμένη μικροβιακή ποικιλότητα του εντέρου κατά τη βρεφική ηλικία προηγείται της ανάπτυξης ατοπικών ασθενειών αργότερα στη ζωή. (Bisgaard H., Li N., Bonnelykke K. 2011), (Abrahamsson T.R., Jakobsson H.E., et al. 2014). Ο ρόλος του εντερικού μικροβιώματος στην υγεία και την τροφική αλλεργία έχει τεκμηριωθεί σε σχέση με το ανθρώπινο έντερο. (Aitoro R., Paparo L., Amoroso A. 2017). Μικρότερες αναλογίες βακτηριοειδών και μεγαλύτερες αναλογίες Firmicutes έχουν αναφερθεί ότι σχετίζονται με βρέφη αλλεργικά στα τρόφιμα. (Ling Z., Li Z., Liu X. 2014). Η ευαισθητοποίηση στα αλλεργιογόνα εμφανίζεται μετά τη βρεφική ηλικία, ειδικά, στην ανάπτυξη ρινίτιδας, στην πρώιμη παιδική ηλικία. (Chiu C.Y., Huang Y.L., Tsai M.H. 2014). Σε αυτή τη μελέτη, σε αντίθεση με τις προηγούμενες μελέτες που διεξήχθησαν σε βρέφη, το γένος Firmicutes φάνηκε να είναι χαμηλότερο σε παιδιά σχολικής ηλικίας με αλλεργικές παθήσεις των αεραγωγών. Αυτό το συγκρουόμενο εύρημα δείχνει ότι η

οικολογική διαδοχή των Firmicutes μπορεί να λάβει μέρος στις αλλεργικές μεταβολές απόκρισης σε αεροαλλεργικά στην παιδική αλλεργική ρινίτιδα. (Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, et al. 2019). Μια αλλεργική αντίδραση εμφανίζεται όταν το ανοσοποιητικό σύστημα αντιδρά υπερβολικά σε ένα αλλεργιογόνο παράγοντα ειδικά στα αντισώματα IgE. (Galli S.J., Tsai M. 2012). Τα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης IgE κοπράνων αντιπροσωπεύουν έκθεση σε αλλεργιογόνα τροφίμων και ευαισθητοποίηση τροφίμων κατά τη βρεφική ηλικία. (Kolmannskog S., Haneberg B. 1985). Ωστόσο, στην πρώιμη παιδική ηλικία, οι συγκεντρώσεις ανοσοσφαιρίνης IgE στα κόπρανα συσχετίστηκαν με το αντίστοιχο σύνολο επιπέδων ανοσοσφαιρίνης IgE ορού, και συγκεκριμένα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης IgE στα ακάρεα, αλλά όχι στα αλλεργιογόνα στο ασπράδι ή στο αγελαδινό γάλα. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η ευαισθητοποίηση των τροφίμων μειώνεται στα παιδιά μετά τη βρεφική ηλικία, η οποία με τη σειρά της, μειώνει τη στατιστική αποτελεσματικότητα. Τα ευρήματα της προαναφερθείσας έρευνας, δείχνουν ότι τα επίπεδα IgE κοπράνων μπορεί να είναι ένας πολλά υποσχόμενος δείκτης αλλεργικών καταστάσεων ως απόκριση στην έκθεση σε αλλεργιογόνα. (Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, et al. 2019). Το γένος Dorea των φύλων Firmicutes, έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται αντιστρόφως, τόσο με την ευαισθητοποίηση των τροφίμων όσο και με την τροφική αλλεργία στα βρέφη. (Savage J.H., Lee-Sarwar K.A., Sordillo J. 2018). Ομοίως, στην πρώιμη παιδική ηλικία, το γένος Dorea συσχετίστηκε αντίστροφα με τα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης IgE ειδικά για D. pteronyssinus και φάνηκε να είναι πιο συγκεκριμένο για την αλλεργική ρινίτιδα. (Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, et al. 2019). Λόγω της επίμονης συσχέτισης του γένους Dorea με την αλλεργία, μια μεταβολή στη σύνθεση του γένους Dorea μπορεί να οδηγήσει σε πρόληψη ή θεραπεία της αλλεργικής ρινίτιδας με αλλαγή της ανάπτυξης αλλεργικής ευαισθητοποίησης στα ακάρεα της σκόνης στο σπίτι. Αυτές οι παρατηρήσεις διευκρινίζουν τον πιθανό ρόλο ορισμένων βακτηρίων, σε ατοπικές ασθένειες μέσω της καταστολής της ανοσολογικής ανοχής στα αλλεργιογόνα. (Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, et al. 2019).

4.4 Ο ρόλος των προβιοτικών στην αντιμετώπιση της αλλεργικής πρωκτοκολίτιδας.

Η αλλεργική πρωκτοκολίτιδα είναι μια αρκετά συχνή αλλεργική νόσος της βρεφικής ηλικίας που χαρακτηρίζεται από παρουσία βλέννης και αίματος στις κενώσεις του βρέφους η οποία ονομάζεται επίσης και ηωσινοφιλική πρωκτοκολίτιδα. Η αλλεργική αυτή

διαταραχή δεν προκαλείται από τα αντισώματα ανοσοσφαιρίνης E IgE, καθώς η εμφάνισή της προκαλείται από πρωτεΐνες τροφίμων. Η σημαντική της ιδιαιτερότητα, σε σχέση με τις υπόλοιπες τροφικές αλλεργίες, είναι ότι ενοχοποιείται και το μητρικό γάλα, καθώς στην πλειοψηφία των περιπτώσεων παρουσιάζεται σε βρέφη τα οποία θηλάζουν αποκλειστικά, γι' αυτό και οι περισσότεροι ασθενείς είναι ηλικίας μικρότερης των 6 μηνών. Πιο συγκεκριμένα ο συνηθέστερος ένοχος είναι το αγελαδινό γάλα που καταναλώνει η μητέρα και το οποίο μέσω του θηλασμού περνά στο βρέφος. Στην συντριπτική πλειοψηφία οφείλεται στις πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος (κυρίως στη β-λακτοσφαιρίνη). Σε λίγες εξαιρέσεις, υπεύθυνες μπορεί να είναι οι πρωτεΐνες του αυγού, του ψαριού και των σιτηρών. Η αλλεργική πρωκτοκολίτιδα είναι μια παροδική ασθένεια η οποία επηρεάζει συνήθως τα βρέφη κατά τους πρώτους μήνες της ζωής και στις περισσότερες περιπτώσεις εξαφανίζεται κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους ζωής. Η βασική προσέγγιση στην θεραπεία της αλλεργικής πρωκτοκολίτιδας είναι η εξάλειψη της υπεύθυνης αλλεργιογόνου τροφής από τη διατροφή της μητέρας. Οι κλινικές εκδηλώσεις είναι επαναλαμβανόμενες και μία από τις πιο κοινές, είναι η αιμορραγία από το ορθό στην πρώιμη βρεφική ηλικία και μπορεί να εκδηλωθεί, αν και σπάνια, όπως προφέρεται πρωκτική αιμορραγία. Ωστόσο αν και είναι καλοήθους αιτιολογίας, συχνά αποτελεί πηγή ιδιαίτερης ανησυχίας για τους γονείς. Η διάρροια με βλέννα, οι κωλικοί, ο έμετος και η έντονη ευερεθιστότητα ήταν συνοδευτικά συμπτώματα στο γαστρεντερικό σύστημα σε πολλές περιπτώσεις ασθενών. Όταν υπάρχει αποκλειστικός θηλασμός, ο αποκλεισμός του γάλατος και των γαλακτοκομικών προϊόντων από τη διατροφή της μητέρας, στις περισσότερες περιπτώσεις, οδηγεί και στη διακοπή των βλεννοαιματηρών κενώσεων (Vandenplas Y, Koletzko S, et al. 2007), (American Academy of Pediatrics: Pediatrics. 2000). Πρόσφατες υποθέσεις για την εξήγηση της αύξησης των ασθενειών που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα έχουν δείξει ότι ο δυτικός τρόπος ζωής θέτει το υπόβαθρο για τις αλλεργικές και αυτοάνοσες ασθένειες εξαιτίας της έκθεσης σε μικρόβια, με αποτέλεσμα τις διαταραχές στον αποικισμό του εντερικού βλεννογόνου και του ανοσοποιητικού συστήματος. (Wold AE. 1998), (Shreiner A, Huffnagle GB, Noverr MC. 2008).

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η συμπληρωματική θεραπεία με το προβιοτικό *Lactobacillus rhamnosus* GG, μπορεί να επιταχύνει την εξάλειψη των συμπτωμάτων, όταν συνδυάζεται με υδρολυμένο υποκατάστατο γάλατος. (Baldassarre ME, Laforgia N, et al. 2010). Τα τελευταία χρόνια, παρατηρήθηκε ότι τα συμπτώματα ορισμένων βρεφών με αλλεργική πρωκτοκολίτιδα υποχωρούν αρκετά γρήγορα ενώ λαμβάνουν προβιοτικά.

Επίσης, φάνηκε ότι η προσθήκη του προβιοτικού *Lactobacillus rhamnosus* GG βελτιώνει σημαντικά τα αποτελέσματα αυτά. Υποστηρίχθηκε ότι οι προσβολές στην φυσιολογική ανάπτυξη του μικροβιώματος του εντέρου του βρέφους, οδηγούν σε δυσβίωση στα πρώιμα βρέφη και δημιουργούν κίνδυνο για την ανάπτυξη της αλλεργικής πρωκτοκολίτιδας και ίσως άλλων γαστρεντερικών αλλεργιών σε όλη την παιδική ηλικία. (Baldassarre ME, Laforgia N, et al. 2010), (Berni Canani R, Nocerino R, et al. 2013). Μερικοί έχουν υποστηρίξει επίσης, ότι η τρέχουσα κλινική πρακτική της πιθανής διάγνωσης της αλλεργικής πρωκτοκολίτιδας χωρίς ιστοπαθολογία οδηγεί σε σημαντική υπερδιάγνωση της αλλεργικής πρωκτοκολίτιδας (Xanthakos SA, Schwimmer JB, et al. 2005). Αλλά κλινικά, η σιγμοειδοσκόπηση ή η κολonosκόπηση σπάνια πραγματοποιούνται σε βρέφη με μόνο αιμορραγία από το ορθό, λόγω της διεισδυτικότητας (εκτός εάν υπάρχουν συμπτώματα ενδεικτικά άλλων πιθανών αιτιολογιών, όπως κακή ανάπτυξη, υπερβολική ευερεθιστότητα ή έντονη αιμορραγία). Επιπλέον, υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις ότι ενδέχεται να υπάρχουν αρνητικές (αλλεργικές) συνέπειες στην αυστηρή αποφυγή διατροφικών αντιγόνων κατά τη βρεφική ηλικία (Toit Du G, Roberts G, et al. 2015). Επομένως, η αξιολόγηση των παρεμβάσεων που μπορεί να μετριάσουν την ανάγκη για διατροφικό περιορισμό στα βρέφη είναι έγκαιρη και σημαντική. (Victoria J. Martin, Wayne G. Shreffler, et al. 2016).

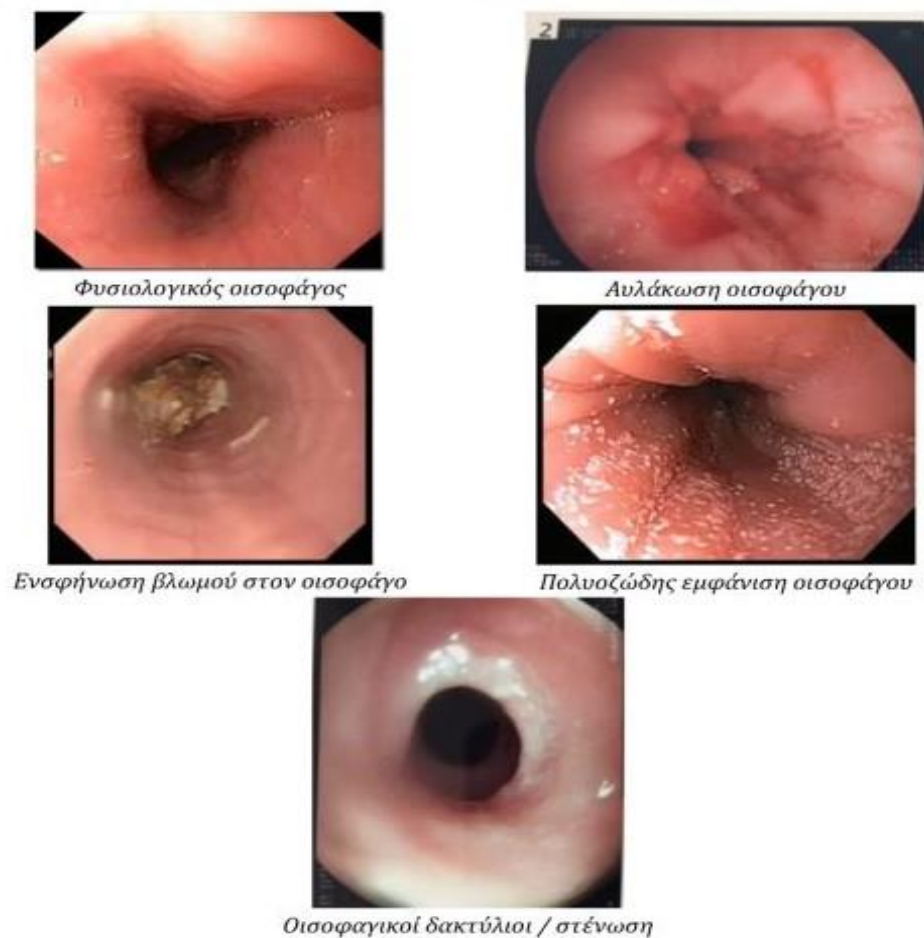
Η προσεκτική προοπτική διερεύνηση του μικροβιώματος του εντέρου του βρέφους και ο ρόλος του στις αλλεργικές ασθένειες του γαστρεντερικού, μπορεί να αποκαλύψει νέα παθοφυσιολογία σε αυτήν την ασθένεια. Σε σχετική έρευνα που πραγματοποιήθηκε, παρατηρήθηκε ότι τα συμπτώματα ορισμένων βρεφών με αλλεργική πρωκτοκολίτιδα μειώθηκαν αρκετά γρήγορα ενώ λάμβαναν προβιοτικά, ακόμη και αν δεν υπήρχε η τυπική εξάλειψη του γάλακτος ή των άλλων σημαντικών αλλεργιογόνων στα βρέφη. Ενώ υπάρχουν κάποια στοιχεία ότι η προσθήκη του προβιοτικού *Lactobacillus rhamnosus* GG βελτιώνει τα αποτελέσματα στην ύφεση των συμπτωμάτων της αλλεργικής πρωκτοκολίτιδας, δεν έχει αναφερθεί παρ' όλα αυτά κάποια προβιοτική μονοθεραπεία για την αλλεργική πρωκτοκολίτιδα. Απαιτούνται τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές που να διερευνούν τη διαχείριση της αλλεργικής πρωκτοκολίτιδας που προκαλείται από τρόφιμα. Αυτή η σειρά περιπτώσεων υποδηλώνει ότι χρειάζονται καλά σχεδιασμένες μελέτες που να εκτιμούν τη φυσική ιστορία της αλλεργικής πρωκτοκολίτιδας και να δίνουν καλύτερα και πιο έγκυρα αποτελέσματα για τη χρήση των προβιοτικών ως μονοθεραπείας, στη

θεραπεία της προερχόμενης από τρόφιμα αλλεργικής πρωτοκκολίτιδας (Victoria J. Martin, Wayne G. Shreffler, et al. 2016).

4.5 Η συσχέτιση του εντερικού μικροβιώματος με την Ηωσινοφιλική Οισοφαγίτιδα.

Η Ηωσινοφιλική Οισοφαγίτιδα (Eosinophilic esophagitis, EOE), είναι μια κλινικοπαθολογική νόσος η οποία μπορεί να προσβάλλει τόσο παιδιά όσο και ενήλικες και χαρακτηρίζεται από συμπτώματα που μπορεί να μιμηθούν την γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση (ΓΟΠ), -όμως δεν ανταποκρίνονται με επιτυχία στη θεραπεία της ΓΟΠ- (όπως είναι η άρνηση λήψης τροφής, οι έμετοι, ο οπισθοστερνικός καύσος, η δυσφαγία ή και η καθήλωση της τροφής) και έντονη διήθηση του οισοφάγου από ηωσινόφιλα που δεν βελτιώνονται με χορήγηση αναστολέων αντλίας πρωτονίων. Υπάρχουν πολλοί αιτιολογικοί παράγοντες κινδύνου που συμβάλουν στην αύξηση της EOE. Μία πιθανότητα είναι ότι η EOE είναι αλλεργικό νόσημα, όπως όλα τα άλλα αλλεργικά νοσήματα δηλαδή, το άσθμα, η ρινίτιδα, η ατοπική δερματίτιδα και οι τροφικές αλλεργίες. Η EOE σαν αλλεργιοανοσολογική οντότητα, αυξάνεται παράλληλα με τα άλλα αλλεργικά νοσήματα. (Strauman et al. 2012). Στα παιδιά, μεγαλύτερος αιτιολογικός παράγοντας είναι τα τροφικά αλλεργιογόνα, ενώ στους εφήβους τα αεροαλλεργιογόνα. (Almansa C, Krishna M, et al. 2009). Ένα καίριο όμως ερώτημα δημιουργείται στο σημείο αυτό, το οποίο είναι το γιατί κάποιες τροφές οι οποίες ήταν ανεκτές για χρόνια, γίνονται αλλεργιογόνες. Πιθανόν, ενοχοποιείται ο σύγχρονος τρόπος ζωής, η προσθήκη διαφόρων ορμονών καθώς και φαρμακευτικών ουσιών, ακόμη και ο τρόπος συντήρησης ή και μεταφοράς της τροφής. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι η κατάχρηση αντιβιοτικών, και κυρίως κατά τη βρεφική ηλικία, οι μεταβολές του μικροβιώματος καθώς και η προωρότητα, ευθύνονται άμεσα για την αύξηση της επίπτωσης της EOE. (Hviid A, et al. 2011). Παρατίθεται μία εικόνα όπου αποτυπώνει τα ενδοσκοπικά ευρήματα του οισοφάγου ασθενών με EOE (εικόνα 4) (Strauman et al. 2012).

Ενδοσκοπικά ευρήματα του οισοφάγου ασθενών με EOE:



(εικόνα 4): Ενδοσκοπικά ευρήματα του οισοφάγου ασθενών με EOE (Strauman et al. 2012).

Συνεχίζοντας, υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν πως και το μικροβίωμα του εντέρου διαδραματίζει έναν ακόμη σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση και στην εξέλιξη της EOE. Για παράδειγμα, παράγοντες που σχετίζονται με αλλοιωμένο εντερικό μικροβίωμα, όπως η έλλειψη θηλασμού, η καισαρική τομή, ή η χρήση αντιβιοτικών στην πρώιμη ζωή έχουν συσχετιστεί και αυτοί με την ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα. (Radano et al., 2014). Η ευαισθητοποίηση στα αντιγόνα της τροφής που προκαλεί ανοσοαπόκριση και οδηγεί στη φλεγμονή του οισοφάγου στην EOE, υποδηλώνει επίσης έναν ρόλο για το μικροβίωμα του εντέρου και συγκεκριμένα των συστάδων *Clostridium XIVa*, *XIVb* και *IV*, τα οποία έχουν αναγνωρισθεί για την προστασία που παρέχουν κατά της ανάπτυξης τροφικών αλλεργιών σε μελέτες τρωκτικών, οδηγώντας στην επέκταση των ρυθμιστικών T λεμφοκυττάρων και βελτιώνοντας τη λειτουργία φραγμού (Stefka et al., 2014).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Purna C. Kashyap et al., διερευνήθηκε ο ρόλος του μικροβιώματος του εντέρου στην ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα. Το βακτηριακό DNA

κοπράνων εκχυλίστηκε και ακολουθήθηκε ενίσχυση 16S rRNA από δώδεκα ασθενείς με ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα και από δώδεκα μάρτυρες. Αναλύθηκαν οι εντερικές μικροβιακές ποικιλίες στις δύο ομάδες. Οι ασθενείς με ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα είχαν χαμηλότερη ποικιλότητα μικροβιώματος στο έντερο, σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. (Purna C. Kashyap, Stephen Johnson, et al. 2019). Η θετική ανταπόκριση στη στοιχειακή διατροφή που παρατηρήθηκε στην ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα με τις πιθανές επιδράσεις της στο μικροβίωμα των κοπράνων, επισημαίνει το ρόλο του εντερικού μικροβιώματος. Ως εκ τούτου, σε αυτή τη μελέτη, αξιολογήθηκε το μικροβίωμα του εντέρου που απεικονίζεται στα κόπρανα από ασθενείς με ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα και συγκρίθηκε με αυτό των αντίστοιχων υγιών μαρτύρων. (Purna C. Kashyap, Stephen Johnson, et al. 2019). Στην έρευνα, ενήλικες ασθενείς με ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα προσελήφθησαν διαδοχικά από την κλινική εξωτερικών ασθενών της ηωσινοφιλικής οισοφαγίτιδας. Οι ασθενείς αποκλείστηκαν εάν βρίσκονταν σε θεραπεία με αναστολείς αντλίας πρωτονίων, είχαν έκθεση σε αντιβιοτικά ή συστηματικά στεροειδή εντός των τελευταίων δύο μηνών. Οι ασθενείς έστειλαν τα δείγματα των κοπράνων σε ψυχρή συσκευασία εντός μίας εβδομάδας από την ενδοσκόπηση, που στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία. Υγιή άτομα (μάρτυρες) ελέγχου ενηλίκων προσλήφθηκαν ως μέρος διαφορετικών μελετών και αντιστοιχίστηκαν με τους ασθενείς της ηωσινοφιλικής οισοφαγίτιδας για ηλικία, φύλο και ΔΜΣ. Κανένας από τους υγιείς μάρτυρες δεν είχε ιστορικό άσθματος, χρήση αντιβιοτικών τις τελευταίες τέσσερις εβδομάδες ή χρήση αναστολέων αντλίας πρωτονίων PPI. (Purna C. Kashyap, Stephen Johnson, et al. 2019).

Εν συνεχεία, συγκρίθηκε η σύνθεση της μικροβιακής κοινότητας με βάση το 16S rRNA σε δείγματα κοπράνων από ασθενείς με ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα (12 άτομα) και στα υγιή άτομα ελέγχου (12 άτομα). Σε επίπεδο βακτηριακών φύλων, παρατηρήθηκε μια σημαντική μείωση στα Firmicutes και την αύξηση των βακτηριοειδών σε ασθενείς με ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα. Οι μικροβιακές κοινότητες του εντέρου από ασθενείς με ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα χαρακτηρίστηκαν με χαμηλότερη ποικιλομορφία, η οποία ήταν σημαντικά μικρότερη από αυτή των υγιών μαρτύρων. Υπήρχαν σημαντικές διαφορές στη σχετική αφθονία μεταξύ των δύο ομάδων, με ιδιαίτερα σημαντικές μειώσεις αυτές, στα Clostridia και Clostridiales σε ασθενείς με ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα. (Purna C. Kashyap, Stephen Johnson, et al. 2019). Αυτό το εύρημα είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς και προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι τα μέλη της ομάδας Clostridia δρουν προστατευτικά έναντι της ανάπτυξης τροφικών αλλεργιών σε μοντέλα τρωκτικών. Μικροβιώματα που περιέχουν

Clostridia συσχετίστηκαν με την επέκταση των εντερικών ρυθμιστικών T κυττάρων, την επαγωγή της παραγωγής ιντερλευκίνης IL-22 και την αλλαγή τάξης σε αντισώματα IgA προάγοντας ένα ανοσοποιητικό περιβάλλον ευνοϊκό για την ανοχή απέναντι στα διατροφικά αντιγόνα (Stefka et al., 2014). Εκτός από τις μελέτες τρωκτικών, τα στελέχη Clostridia που έχουν απομονωθεί από κόπρανα υγιών ανθρώπων, έχουν επίσης αποδειχθεί ότι συμβάλουν στη δημιουργία ρυθμιστικών T λεμφοκυττάρων στο κοιλικό έλασμα παχέως εντέρου, όταν μεταφέρονται σε αξενικά ποντίκια (Nagano et al., 2012).

Παρ' όλο που τα αποτελέσματα της έρευνας υποστηρίζουν τη χρήση παρεμβάσεων που βασίζονται στο γένος Clostridia ως πιθανό συμπλήρωμα των τρεχουσών θεραπευτικών στρατηγικών απέναντι στην ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα, οι ερευνητές Purna C. Kashyap et al., υποστηρίζουν ότι χρήζει περαιτέρω αξιολόγησης καθώς και ερευνών. (Purna C. Kashyap, Stephen Johnson, et al. 2019).

4.6 Η νεκρωτική εντεροκολίτιδα στα νεογνά και η συσχέτιση αυτής με το μικροβίωμα του εντέρου.

Η νεκρωτική εντεροκολίτιδα είναι μία πολυπαραγοντική νόσος που προκαλεί οξεία νεκρωτική ισχαιμία και μπορεί να προσβάλλει τόσο το λεπτό όσο και το παχύ έντερο. Είναι η πιο συχνή, σοβαρή και πολλές φορές θανατηφόρα νόσος του γαστρεντερικού συστήματος των πρόωρων νεογνών. Παρατηρείται κυρίως σε πρόωρα νεογνά, αλλά μπορεί να προσβάλλει και τελειόμηνα. Αρκετά ζητήματα υπό διερεύνηση, όπως η άγνωστη παθογένεια, η ανεπαρκής και συχνά δύσκολη θεραπευτική προσέγγιση, καθώς και η έλλειψη μιας κοινής και αποτελεσματικής στρατηγικής πρόληψης, καθιστούν τη νόσο αυτή ένα αίνιγμα στην καθημερινή κλινική πρακτική. Η ακριβής αιτιολογία της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας παραμένει άγνωστη και ασαφής. Σε κάθε περίπτωση πάντως, η προωρότητα αποτελεί τον πλέον σημαντικό παράγοντα κινδύνου. Η νοσολογική εικόνα της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας είναι εξαιρετικά ευρεία και περιλαμβάνει συμπτώματα και τόσο από το γαστρεντερικό σύστημα όσο και γενικά, ενώ η διάγνωση της νόσου στηρίζεται στην κλινική εικόνα και στα αποτελέσματα του ακτινολογικού ελέγχου. Τα συμπτώματα της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας ξεκινούν αιφνιδίως με κοιλιακή ευαισθησία. Μπορεί να παρατηρηθεί επίσης αίμα από τον ορθό, έμετος, οίδημα στην κοιλιακή περιοχή, κοιλιακή ευαισθησία, μετεωρισμός, διάρροια, αιμορραγία και γαστρικά υπολείμματα μετά τη σίτιση. Η θεραπευτική αντιμετώπιση της νεκρωτικής

εντεροκολίτιδας περιλαμβάνει τη φαρμακευτική αγωγή και τη χειρουργική επέμβαση και εξαρτάται κατά κύριο λόγο από το στάδιο της νόσου. Η έγκαιρη διάγνωση και η θεραπεία της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας έχουν μειώσει σημαντικά τόσο τη νοσηρότητα όσο και τη θνητότητα από τη νόσο. Οι στρατηγικές πρόληψης της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας, περιλαμβάνουν το θηλασμό, την κατάλληλη εντερική σίτιση, την προγεννητική χορήγηση κορτικοστεροειδών, τα εντερικά αντιβιοτικά, τα προβιοτικά, τα πρεβιοτικά, την οξינוποίηση της εντερικής σίτισης, την αργινίνη και την ερυθροποιητίνη (Α. Μπιλάλη, Χ. Μπαρτσόκας, Ε. Βελονάκης 2012).

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η νεκρωτική εντεροκολίτιδα έχει συσχετιστεί με την πρόωμη έναρξη της εντερικής σίτισης και τις περισσότερες φορές εκδηλώνεται μετά από πρόσφατη αύξηση ή επανέναρξη μετά τη διακοπή. Η χορήγηση μητρικού γάλακτος ελαττώνει την επίπτωσή της, αλλά δεν προλαμβάνει εντελώς την εκδήλωσή της. (Sisk PM, et al. 2007). Πρώτος ο Barlow, δημοσίευσε το 1974 μελέτη αναδεικνύοντας τη σημασία του μητρικού γάλακτος στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας και τον προστατευτικό ρόλο της ανοσοσφαιρίνης sIgA. Οι κλινικές εκδηλώσεις συνήθως αρχίζουν έπειτα από την έναρξη της εντερικής σίτισης. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η έναρξη των κλινικών εκδηλώσεων είναι ύπουλη και είναι δυνατόν να αναπτυχθεί μια σηπτική κατάσταση πριν ακόμη διαγνωστεί η παρουσία της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας. (Sisk PM, et al. 2007). Οι μικροβιακές κοινότητες του εντέρου, ειδικά οι κοινότητες βακτηρίων, υπήρξαν από καιρό ύποπτες ότι διαδραματίζουν ρόλο στην ανάπτυξη της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας. Η τεχνολογία προσδιορισμού αλληλουχίας νουκλεϊκών οξέων απευθείας από τα κόπρανα, προσέφερε πληροφορίες για τη σύνθεση αυτών των κοινοτήτων. Τα δεδομένα συγκλίνουν σχετικά με τους ρόλους των Gram-αρνητικών βακτηρίων ως αιτιολογικών παραγόντων. Τα βακτήρια που παρέχουν προστασία από τη νεκρωτική εντεροκολίτιδα δεν έχουν εντοπιστεί σε όλες τις μελέτες. Επίσης, η ευεργετική επίδραση των προβιοτικών δεν είναι εμφανής σε βρέφη με βάρος γέννησης κάτω από ένα κιλό (αυτά τα βρέφη διατρέχουν τον υψηλότερο κίνδυνο και έχουν το υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας από τη νεκρωτική εντεροκολίτιδα). (Arrieta MC, Stiemsma LT, et al. 2014).

Το εντερικό μικροβίωμα του νεογνού είναι μια περιοχή με έντονο και αυξανόμενο ενδιαφέρον για την περιγεννητική. Υπάρχει αναδυόμενη εκτίμηση των ρόλων που διαδραματίζει το μικροβίωμα του εντέρου στην εντερική υγεία, και στην πραγματικότητα, στη δια βίου υγεία. Πιο συγκεκριμένα, με τα πρόωρα βρέφη σε μονάδες εντατικής

θεραπείας νεογνών, πολλές σημαντικές διαταραχές είναι πιθανό να προέρχονται είτε από μη φυσιολογικές αναλογίες μικροβιακού περιεχομένου, είτε όταν ένας ευάλωτος ξενιστής συναντά ένα συγκεκριμένο παθογόνο. Η κλασική υπόθεση υποστηρίζει ότι το έντερο του νεογνού (το μεκόνιο) δεν περιέχει βακτήρια, ή τουλάχιστον κανένα βιώσιμο βακτήριο, κατά τη γέννηση. Ωστόσο, τα πρόσφατα δεδομένα απαιτούν επανεξέταση αυτού του δόγματος. Οι Mshvildadze et al. ταυτοποίησαν βακτηριακές αλληλουχίες σε μεκόνιο. (Mshvildadze M, Neu J, et al. 2010). Οι Stout et al. εντόπισαν βακτηριακά σώματα πλακούντων, σε νεογνά που γεννήθηκαν μέσω καισαρικής τομής. (Stout MJ, Conlon B, et al. 2013). Οι Aagaard et al. ανέφεραν βακτηριακές 16S και μεταγονιδιωματικές αλληλουχίες σε πλακούντες, βρίσκοντας ομοιότητες μεταξύ αυτών των αλληλουχιών και εκείνων των βακτηρίων που κατοικούν στο στόμα (Aagaard K, Ma J, et al. 2014).

Ενώ ο πληθυσμός του βρεφικού εντέρου με βακτήρια είναι ένα συναρπαστικό οικολογικό γεγονός που αξίζει να μελετηθεί από μόνο του, η συγκέντρωση πειραματικών δεδομένων υποδηλώνει ότι τα πρώτα βακτήρια του εντέρου στη ζωή επηρεάζουν τη μελλοντική ευημερία των ξενιστών τους (Arrieta MC, Stiemsma LT, et al. 2014). Οι Barbara B. Warner και Phillip I. Tarr μελέτησαν βιβλιογραφικά περί του μικροβιώματος του εντέρου και της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας στα νεογνά. Σχετικά με τα βρέφη που γεννήθηκαν πολύ πρόωρα, υπάρχουν επιπλέον επιτακτικοί λόγοι για τη μελέτη του μικροβιώματος του εντέρου λόγω της υψηλής συχνότητας με την οποία αυτά τα βρέφη αντιμετωπίζουν επιπλοκές της πρόωρης γέννησης που συνδέονται εύλογα με αυτήν τη βιομάζα. Οι δύο πιο τρομερές συνέπειες στις οποίες τα βακτήρια του εντέρου θα μπορούσαν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην έκβαση, είναι η τόσο η νεκρωτική εντεροκολίτιδα όπου μελετάται, όσο και οι νεογνικές μολύνσεις της κυκλοφορίας του αίματος (Barbara B. Warner and Phillip I. 2016). Το «φυσιολογικό» εντερικό μικροβίωμα του πρόωρου βρεφικού εντέρου έχει χαρακτηριστεί μεταξύ των βρεφών που γεννήθηκαν πολύ πρόωρα και είχαν τον κίνδυνο να αναπτύξουν νεκρωτική εντεροκολίτιδα, αλλά που δεν παρουσίασαν αυτό το συμβάν, χαρακτηρίστηκαν δηλαδή ως μάρτυρες. Μέχρι πρόσφατα, αυτές οι αναλύσεις χρησιμοποίησαν τεχνολογία βασιζόμενη σε καλλιέργεια ή ενίσχυση αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης του DNA που εξήχθη από κόπρανα και δοκιμή κινητικότητας σε ένα πήκτωμα. Πιο πρόσφατα, οι εξελίξεις στην τεχνολογία προσδιορισμού αλληλουχιών, η επέκταση των βάσεων δεδομένων ριβοσωματικών γονιδίων RNA και οι μεταγονιδιωματικές ικανότητες (αλληλουχία DNA που δεν περιορίζεται σε περιοχές γονιδίου 16S rRNA) έχουν καταστήσει εφικτή την άμεση

ενίσχυση με βακτηριακό DNA. (Human Microbiome Project 2012). Εν συνεχεία, για να πραγματοποιήσουν τη μελέτη αυτή, οι Barbara B. Warner και Phillip I. Tarr ανέτρεξαν σε δημοσιεύσεις από έξι μονάδες εντατικής θεραπείας νεογνών, στα οποία η συγκέντρωση βακτηριακών κοινοτήτων σε «φυσιολογικά» πρόωρα βρέφη έχει μελετηθεί σε βάθος χρησιμοποιώντας άμεση αλληλουχία απευθείας από κόπρανα. Για τους σκοπούς αυτής της αναθεώρησης, τα κριτήριά τους για να συμπεριληφθούν τέτοιες μελέτες είναι εκείνα που περιελάμβαναν τουλάχιστον 100 δείγματα κοπράνων από τουλάχιστον 25 άτομα που δεν ανέπτυξαν νεκρωτική εντεροκολίτιδα και ότι η τεχνολογία απαρίθμησης χρησιμοποιούσε 16S rRNA γονίδιο ή μεταγονιδιωματική αλληλούχηση. (Barbara B. Warner and Phillip I. 2016).

Σε αυτήν την περιεκτική μελέτη των πρόωρων βρεφών, η αλληλουχία γονιδίων 16S rRNA έδειξε ένα αξιοσημείωτα χορογραφημένο πρότυπο, δηλαδή, το βακτηριακό περιεχόμενο του εντέρου στην αρχή της ζωής κυριαρχείται από το γένος Bacilli (οι Bacilli είναι Gram-θετικοί κόκκοι όπως οι σταφυλόκοκκοι, οι στρεπτόκοκκοι, και εντερόκοκκοι). Οι Bacilli σύντομα προσπερνούνται από αρνητικούς κατά Gram προσθετικούς οργανισμούς (μια ποικιλία γενών και ειδών στην τάξη Gammaproteobacteria). Αυτή η αύξηση στα Gammaproteobacteria αντισταθμίζεται από μια σταδιακά αυξανόμενη αφθονία Clostridia (πολλά γένη και φύλα) και Negativicutes (κυρίως Veillonella). Συνολικά, τέσσερις βακτηριακές τάξεις (Bacilli, Gammaproteobacteria, Clostridia και Negativicutes) αντιπροσωπεύουν περισσότερο του 90% των ειδών που υπάρχουν. Σε σύγκριση με την περιεκτικότητα του εντέρου σε μεγαλύτερα παιδιά και ενήλικες, αυτοί οι βακτηριακοί πληθυσμοί του πρόωρου βρεφικού εντέρου έχουν πολύ υψηλότερη περιεκτικότητα σε Gammaproteobacteria (μία έως δύο τάξεις διαφοράς μεγέθους) και περίπου το ήμισυ της πυκνότητας των υποχρεωτικών αναερόβιων βακτηριδίων. (Barbara B. Warner and Phillip I. 2016). Μέχρι σήμερα, έχουν ενοχοποιηθεί αρκετοί μικροοργανισμοί, μεταξύ των οποίων την πρώτη θέση κατέχουν τα Gram αρνητικά βακτηρίδια, κυρίως εντεροβακτηριοειδή, και ακολουθούν οι Gram θετικοί κόκκοι, τα παράσιτα και οι ιοί. Οι μεγαλύτερες μελέτες τείνουν να επικεντρώνονται στην επικράτηση των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων ως υπαιτίων της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας. (Brower-Sinning R, Zhong D, Good M, et al. 2014). Διάφορα βακτηρίδια έχουν απομονωθεί από καλλιέργειες κοπράνων νεογνών με νεκρωτική εντεροκολίτιδα, όπως Escherichia coli, Klebsiella, Enterobacter, Pseudomonas, Salmonella, Clostridium difficile, Coagulase-negative staphylococci κ.ά. Συγκεκριμένα, τα αναερόβια βακτηρίδια αποκτούν αφθονία ταχύτερα στις γαστρεντερικές οδούς βρεφών

που γεννιούνται πρόωρα, έτσι οι μικροβιακές εκθέσεις πολύ πρόωρων βρεφών διαφέρουν σημαντικά από εκείνες των βρεφών που γεννήθηκαν κατά τη διάρκεια του χρόνου στον οποίο, όπως έχει προαναφερθεί, ο τρόπος τοκετού και ο θηλασμός φαίνεται να επηρεάζουν τη συγκέντρωση του βακτηριακού πληθυσμού του εντέρου. (Backhed F, Roswall J, Peng Y, et al. 2015).

Στη μεγαλύτερη μελέτη (όσον αφορά τον αριθμό των περιπτώσεων και τον αριθμό των κόπρανων πριν από τη νεκρωτική εντεροκολίτιδα που αναλύθηκαν) που έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα, μια υπερεκπροσώπηση των Gammaproteobacteria συσχετίστηκε με τη νεκρωτική εντεροκολίτιδα, ενώ τα αναερόβια βακτήρια, ιδίως τα Negativicutes και δευτερευόντως το Clostridia, συσχετίστηκαν με την κατάσταση ελέγχου, δηλαδή ότι δρουν προστατευτικά. Ο κίνδυνος των Gammaproteobacteria έχει προταθεί σε πολλές μικρότερες μελέτες (Zhou Y, Shan G, et al. 2015), (Sim K, Shaw AG, Randell P, et al. 2015), (Torrizza RM, Ukhanova M, Wang X, et al. 2013). Σε αντίθεση, ωστόσο, αρκετές δημοσιεύσεις που χρησιμοποιούν άμεση αλληλουχία από κόπρανα δεν έχουν εντοπίσει τα υπερβολικά Gram-αρνητικά βακτήρια ως προοίμιο της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας (Heida FH, van Zoonen AG, Hulscher JB, et al. 2016), (Raveh-Sadka T, Thomas BC, Singh A, et al. 2015).

Αρκετές βιβλιογραφικές κριτικές (Bury RG, Tudehope D. 2001), (Bell EF. 2005) έχουν αξιολογήσει μελέτες στις οποίες στα βρέφη χορηγήθηκαν από του στόματος αμινογλυκοσίδες σε προσπάθειες πρόληψης της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας. Οι αμινογλυκοσίδες ήταν δραστικές έναντι των Gammaproteobacteria στο έντερο, αλλά δεν κατέστειλλαν τους αναερόβιους βακτηριακούς πληθυσμούς. Συνολικά, αυτές οι μελέτες υποστηρίζουν τη χρήση από του στόματος αμινογλυκοσίδων για την πρόληψη της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας. (Rowley MP, Dahlenburg GW. 1978), (Grylack LJ, Scanlon JW. 1978), (Egan EA, Mantilla G, et al. 1976), (Boyle R, Nelson JS, et al. 1978). Ωστόσο, λόγω ανησυχιών σχετικά με την επιλογή της αντοχής σε αμινογλυκοσίδες (Grylack L, Neugebauer D, Scanlon JW. 1982) και την απορρόφηση των στοματικών αμινογλυκοσίδων από το έντερο, τα εντερικά αντιβιοτικά για την πρόληψη της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας δεν είναι ευρέως χρησιμοποιούμενα. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι οι στοματικές αμινογλυκοσίδες συχνά διακόπτονταν σε αυτές τις μελέτες, πριν από τη στιγμή της ζωής κατά την οποία τα πιο πρόωρα βρέφη ανέπτυσαν νεκρωτική εντεροκολίτιδα. Αυτό το χρονοδιάγραμμα αυξάνει την πιθανότητα να έχουν υποτιμηθεί τα ευεργετικά

αποτελέσματα των αντιβιοτικών σε αυτές τις μελέτες (Barbara B. Warner and Phillip I. 2016).

Πριν ακόμη αναφερθούν οι συσχετίσεις μεταξύ της έλλειψης ποικιλομορφίας και της φλεγμονής του εντέρου, οι Claud και Walker πρότειναν την υπόθεση ότι η μειωμένη ποικιλομορφία του πρόωρου βρεφικού εντέρου θα μπορούσε να οδηγήσει σε νεκρωτική εντεροκολίτιδα (Claud EC, Walker WA. 2001). Σε μια πρόσφατη μελέτη, παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της επακόλουθης ανάπτυξης της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας και της συγκριτικά χαμηλότερης ποικιλίας του μικροβιώματος εντέρου. Η διαφορά φαίνεται να συσχετίζεται με καθυστερημένη ή κατασταλτική ωρίμανση της μικροβιακής ποικιλομορφίας σε βρέφη, που στη συνέχεια ανέπτυξαν νεκρωτική εντεροκολίτιδα, σε σύγκριση με εκείνα που δεν ανέπτυξαν. (Warner BB, Deych E, Zhou Y, et al. 2016).

Παρ όλα αυτά, δεν μπορεί να δηλωθεί ότι η έλλειψη ποικιλομορφίας είναι η κινητήρια δύναμη του κινδύνου για την εμφάνιση της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας, έναντι μιας υπερ-εκπροσώπησης των Gammaproteobacteria, η οποία ρυθμίζει άμεσα την έλλειψη ποικιλομορφίας σε αυτά τα σύνολα δειγμάτων. Ωστόσο, ο ρόλος της βακτηριακής ποικιλομορφίας στην προστασία από τη νεκρωτική εντεροκολίτιδα παραμένει μια ενδιαφέρουσα υπόθεση. (Barbara B. Warner and Phillip I. 2016). Το εύρημα μιας μικροβιακής ‘υπογραφής’ πριν από την ανάπτυξη της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας ή ακόμη και μιας προστατευτικής ιδιότητας με τη μορφή των αναερόβιων βακτηρίων, προσφέρει τώρα νέες ευκαιρίες για την αποτροπή αυτής της δυσάρεστης συνέπειας του πρόωρου τοκετού, στα νεογνά. (Barbara B. Warner and Phillip I. 2016).

Συνεχίζοντας, έχει φανεί ότι τα προβιοτικά έχουν ευεργετική δράση απέναντι στην νεκρωτική εντεροκολίτιδα. Με βάση το γεγονός ότι ο αποικισμός του εντέρου των νεογνών με παθογόνα βακτηρίδια αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για αρκετές εντερικές νόσους, η χορήγηση προβιοτικών στα νεογνά φαίνεται να προσφέρει σημαντικά οφέλη. Τα προβιοτικά είναι ζωντανοί αναερόβιοι μικροοργανισμοί που αποτελούν τμήμα της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου των νεογνών και δρουν με ωφέλιμο τρόπο στη λειτουργία του. (BOURLIOUX P et al. 2003). Τα προβιοτικά που χορηγούνται στα νεογνά ανήκουν κατά κύριο λόγο στο γένος *Lactobacillus* και στο γένος *Bifidobacterium*. Ο μηχανισμός δράσης των προβιοτικών απέναντι στην νεκρωτική εντεροκολίτιδα δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Είναι παρ’ όλα αυτά γνωστό, ότι μπορούν να μεταβάλλουν τους μηχανισμούς της εντερικής φλεγμονής, όπως τον αποικισμό από παθογόνα μικρόβια, την παραγωγή φλεγμονωδών μεσολαβητικών συστατικών, την ενεργοποίηση του

ανοσολογικού μηχανισμού του εντέρου και την ενίσχυση του εντερικού φραγμού. (Χατζιωαννίδης Κ., 2002). Επί πλέον, τα προβιοτικά αναστέλλουν την ανάπτυξη αερόβιων παθογόνων μικροοργανισμών και την προσκόλλησή τους στον εντερικό βλεννογόνο, συμβάλλοντας έτσι στην καλύτερη λειτουργία του εντέρου των νεογνών. Αυτό επιτυγχάνεται με την παραγωγή τοξικών ουσιών, όπως η μεθανόλη και η ακετόνη, και οξέων, όπως το οξικό και το γαλακτικό οξύ, που μειώνουν το εντερικό pH.97 Τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές διαπίστωσαν ότι τα προβιοτικά μειώνουν τη συχνότητα εμφάνισης της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας και παράλληλα περιορίζουν τη σοβαρότητα της νόσου. (Lin HC, et al. 2006). Επιπλέον, μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση προβιοτικών σε πρόωρα νεογνά δεν σχετιζόταν με την εμφάνιση ανεπιθύμητων εκβάσεων ή λοιμώξεων. (Lin HC, et al. 2006).

Επιπροσθέτως, τα πρεβιοτικά έχουν αντίστοιχη δράση με τα προβιοτικά, αλλά όχι στον ίδιο βαθμό και με την ίδια αμεσότητα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα πρεβιοτικά δρουν έμμεσα, ενισχύοντας ουσιαστικά τη συγκέντρωση των προβιοτικών και περιορίζοντας τον αποικισμό του εντέρου των νεογνών με παθογόνα βακτηρίδια. Τα πρεβιοτικά δεν περιέχουν ζωντανούς μικροοργανισμούς και για το λόγο αυτό, η πιθανότητα λοίμωξης είναι μικρότερη σε σχέση με την περίπτωση χορήγησης προβιοτικών. Εν τούτοις, η χορήγηση πρεβιοτικών συσχετίζεται με την εμφάνιση ανεπιθύμητων εκβάσεων, που είναι όμως αναστρέψιμες, όπως μετεωρισμός και διάρροια. (Upperman JS, Potoka D, et al 2005).

Συμπεράσματα κεφαλαίου:

Δεδομένου ότι το μικροβίωμα του εντέρου αλληλεπιδρά με το ανοσοποιητικό σύστημα για τη ρύθμιση της ωρίμανσης των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, οι μεταβολές από την πρώιμη κιάλας ζωή του μικροβιώματος του εντέρου, μπορεί να έχουν ανοσορυθμιστική επίδραση στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και στις αποκρίσεις που εμπλέκονται στον προσδιορισμό της ευαισθησίας στην αλλεργία στα φιστίκια (Cao S, Feehley TJ, et al. 2014), (Feehley T, Stefka AT, et al. 2012).

Όσον αφορά το άσθμα, είναι μια από τις πιο συχνές χρόνιες αναπνευστικές ασθένειες παγκοσμίως. Επηρεάζει όλες τις ηλικίες αλλά συχνά ξεκινά από την παιδική ηλικία. Πρόκειται για μια χρόνια φλεγμονώδη διαταραχή των κάτω αεραγωγών που χαρακτηρίζεται από συριγμό, δύσπνοια, σφίξιμο στο στήθος και βήχα, η οποία μπορεί να

ποικίλλει με την πάροδο του χρόνου στην εμφάνιση, τη συχνότητα και τη σοβαρότητά της. Το άσθμα πιστεύεται ότι προέρχεται κυρίως από την εισπνοή, καθιστώντας τον πνεύμονα (και το μικροβίωμά του) πιο σχετικό για την έναρξη του άσθματος. Η διαφορετική σύνθεση του μικροβιώματος του πνεύμονα μεταξύ ασθματικών και υγιών ανθρώπων υποδηλώνει ότι τα βακτήρια μπορεί να συμβάλλουν στην έναρξη του άσθματος, υποδεικνύοντας επίσης έναν πιθανό σημαντικό ρόλο στην επίδραση των ανοσολογικών αποκρίσεων για τα μικροβιώματα που κατοικούν και σε άλλες περιοχές, μία από αυτές όπως είναι και το έντερο (Penders J., Stobberingh E.E., et al. 2007).

Όσον αφορά τις αλλεργικές ασθένειες των αεραγωγών όπως είναι η ρινίτιδα, είναι συχνές χρόνιες φλεγμονώδεις διαταραχές που αποτελούν μείζον ζήτημα υγείας από την παιδική κιόλας ηλικία. Αρκετοί κοινωνικοδημογραφικοί και μεμονωμένοι παράγοντες σχετίζονται σημαντικά με ατοπικά συμπτώματα και ασθένειες. (Chiu C.Y., Huang Y.L., Tsai M.H. 2014), (Ehrlich R.I., Du Toit D., Jordaan E. 1996), (Herzog R., Cunningham-Rundles S. 2011). Η ευαισθητοποίηση σε αλλεργιογόνα είναι γνωστό πως είναι ένας σημαντικός παράγοντας στις ατοπικές παθήσεις της παιδικής ηλικίας. (Host A., Andrae S., Charkin S. 2003). Οι ξενιστές και τα μικρόβιά τους έχουν αναπτύξει συμβιωτικές σχέσεις και αυτή η σχέση έχει εμπλακεί στη ρύθμιση της ανοσίας και της φλεγμονής του βλεννογόνου και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις αλλεργικές παθήσεις των αεραγωγών. Υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις, οι οποίες συνδέουν τις μεταβολές της μικροβιακής σύνθεσης του εντέρου κατά τη διάρκεια της πρώιμης βρεφικής ηλικίας με την ανάπτυξη ατοπικών ασθενειών και άσθματος. Ωστόσο, λίγες είναι οι μελέτες έχουν ασχοληθεί με τη συσχέτιση του μικροβιώματος του δυσβιοτικού εντέρου με τις αλλεργικές αντιδράσεις. (Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, et al. 2019).

Η αλλεργική πρωκτοκολίτιδα είναι μια παροδική ασθένεια η οποία επηρεάζει συνήθως τα βρέφη κατά τους πρώτους μήνες της ζωής και στις περισσότερες περιπτώσεις εξαφανίζεται κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους ζωής. Η βασική προσέγγιση στην θεραπεία της αλλεργικής πρωκτοκολίτιδας είναι η εξάλειψη της υπεύθυνης αλλεργιογόνου τροφής από τη διατροφή της μητέρας. Διάφορες μελέτες όμως, έχουν δείξει ότι η συμπληρωματική θεραπεία με το προβιοτικό *Lactobacillus rhamnosus* GG, μπορεί να επιταχύνει την εξάλειψη των συμπτωμάτων, όταν συνδυάζεται με υδρολυμένο υποκατάστατο γάλατος. (Baldassarre ME, Laforgia N, et al. 2010). Τα τελευταία χρόνια, παρατηρήθηκε ότι τα συμπτώματα ορισμένων βρεφών με αλλεργική πρωκτοκολίτιδα υποχωρούν αρκετά γρήγορα ενώ λαμβάνουν προβιοτικά. Επίσης, φάνηκε ότι η προσθήκη του προβιοτικού

Lactobacillus rhamnosus GG βελτιώνει σημαντικά τα αποτελέσματα αυτά. (Baldassarre ME, Laforgia N, et al. 2010), (Berni Canani R, Nocerino R, et al. 2013).

Η Ηωσινοφιλική Οισοφαγίτιδα (Eosinophilic esophagitis, EOE), είναι μια κλινικοπαθολογική νόσος η οποία μπορεί να προσβάλλει τόσο παιδιά όσο και ενήλικες και χαρακτηρίζεται από συμπτώματα που μπορεί να μιμηθούν την γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση. Υπάρχουν πολλοί αιτιολογικοί παράγοντες κινδύνου που συμβάλουν στην αύξηση της EOE. Μία πιθανότητα είναι ότι η EOE είναι αλλεργικό νόσημα, όπως όλα τα άλλα αλλεργικά νοσήματα δηλαδή, το άσθμα, η ρινίτιδα, η ατοπική δερματίτιδα και οι τροφικές αλλεργίες. (Strauman et al. 2012). Υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν πως το μικροβίωμα του εντέρου διαδραματίζει έναν ακόμη σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση και στην εξέλιξη της EOE. Για παράδειγμα, παράγοντες που σχετίζονται με αλλοιωμένο εντερικό μικροβίωμα, όπως η έλλειψη θηλασμού, η καισαρική τομή, ή η χρήση αντιβιοτικών στην πρώιμη ζωή έχουν συσχετιστεί και αυτοί με την ηωσινοφιλική οισοφαγίτιδα. (Radano et al., 2014). Η ευαισθητοποίηση στα αντιγόνα της τροφής που προκαλεί ανοσοαπόκριση και οδηγεί στη φλεγμονή του οισοφάγου στην EOE, υποδηλώνει επίσης έναν ακόμη ρόλο για το μικροβίωμα του εντέρου. (Stefka et al., 2014).

Η νεκρωτική εντεροκολίτιδα είναι μία πολυπαραγοντική νόσος που προκαλεί οξεία νεκρωτική ισχαιμία και μπορεί να προσβάλλει τόσο το λεπτό όσο και το παχύ έντερο. Είναι η πιο συχνή, σοβαρή και πολλές φορές θανατηφόρα νόσος του γαστρεντερικού συστήματος των πρόωρων νεογνών. Η ακριβής αιτιολογία της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας παραμένει άγνωστη και ασαφής. Σε κάθε περίπτωση πάντως, η προωρότητα αποτελεί τον πλέον σημαντικό παράγοντα κινδύνου. Μέχρι σήμερα, έχουν ενοχοποιηθεί αρκετοί μικροοργανισμοί, μεταξύ των οποίων την πρώτη θέση κατέχουν τα Gram αρνητικά βακτηρίδια, κυρίως εντεροβακτηριοειδή, και ακολουθούν οι Gram θετικοί κόκκοι, τα παράσιτα και οι ιοί. Οι μεγαλύτερες μελέτες τείνουν να επικεντρώνονται στην επικράτηση των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων ως υπαιτίων της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας. (Brower-Sinning R, Zhong D, Good M, et al. 2014). Η έγκαιρη διάγνωση και η θεραπεία της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας έχουν μειώσει σημαντικά τόσο τη νοσηρότητα όσο και τη θνητότητα από τη νόσο. Τα τελευταία χρόνια καταβάλλονται σημαντικές προσπάθειες για την εύρεση αποτελεσματικών προληπτικών παρεμβάσεων, με τη χορήγηση του μητρικού γάλακτος, την κατάλληλη εντερική σίτιση και τη χορήγηση προβιοτικών αλλά και πρεβιοτικών, να αποτελούν τις πλέον ελπιδοφόρες παρεμβάσεις. (Α. Μπιλάλη, Χ. Μπαρτσόκας, Ε. Βελονάκης 2012).

Συμπεράσματα-Συζήτηση:

Το ανθρώπινο μικροβίωμα είναι ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών οι οποίοι βρίσκονται μέσα και πάνω στο σώμα μας. Η ομοιόσταση μεταξύ του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή καθώς και του μικροβιακού αυτού περιβάλλοντος, οδηγεί σε αμοιβαία οφέλη και προστασία. Ο φυσιολογικός αποικισμός του μικροβιώματος είναι απαραίτητος για την ανοσία του οργανισμού. Το ανθρώπινο μικροβιακό οικοσύστημα μπορεί να χωριστεί σε πολλά διαμερίσματα, από τα οποία, η μικροχλωρίδα του εντέρου όπως μελετήθηκε, επηρεάζει έντονα την υγεία μας και παίζει καθοριστικό ρόλο στην παθοφυσιολογία πολλών τροφικών ή μη, αλλεργιών και δυσανεξιών. Η σύνθεση του εντερικού μικροβιώματος, όπως μελετήθηκε, καθιερώνεται νωρίς στη ζωή του ατόμου και παραμένει αρκετά σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής σε μία συμβιωτική σχέση με τον ξενιστή. Η γαστρεντερική οδός, ως ο βασικός "φύλακας" του ανοσοποιητικού συστήματος, διατηρεί την ομοιόσταση με το μικροβίωμα. Οι μεταβολές του εντερικού μικροβιώματος συνδέονται με την παθογένεση των αλλεργικών διαταραχών καθώς και άλλων νοσημάτων (όπως είναι τα καρδιαγγειακά, γαστρεντερικά, μεταβολικά, νευροαναπτυξιακά, κ.ά. νοσήματα). (Huang YJ, Marsland BJ et al. 2017).

Η κατανόησή μας για το ρόλο του μικροβιώματος του εντέρου στην τροφική αλλεργία και δυσανεξία, προήλθε από γνώσεις οι οποίες αποκτήθηκαν από τις παρατηρητικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ανθρώπους και σε ζώα (ποντικούς) καθώς και από διάφορες επεμβατικές δοκιμές. Τα μέχρι στιγμής στοιχεία, δείχνουν ότι η δυσβολία του μικροβιώματος του εντέρου πιθανότατα είναι εκείνη που προηγείται της ανάπτυξης της τροφικής αλλεργίας και της δυσανεξίας. Το εντερικό μικροβίωμα όπως μελετήθηκε, φαίνεται πως επηρεάζει σχεδόν όλες τις πτυχές της ανθρώπινης υγείας. Όμως, ο βαθμός των μέχρι σήμερα επιστημονικών στοιχείων, των μοντέλων, των τεχνολογιών, καθώς και η κατανόηση των μηχανισμών δράσης, ποικίλλουν σημαντικά από τον ένα τομέα στον άλλο και γι' αυτό, χρήζουν μεγαλύτερης διερεύνησης από τον επιστημονικό τομέα. Για να γίνει ευρέως αποδεκτή μια κλινική πρακτική, πρέπει να διερευνηθεί διεξοδικά ο τρόπος δράσης της, το θεραπευτικό υπόβαθρο, καθώς και οι πιθανές παρενέργειες. Αυτό απαιτεί περαιτέρω συντονισμένη έρευνα αιχμής για την καλύτερη κατανόηση και τεκμηρίωση των επιπτώσεων του μικροβιώματος του εντέρου, στην ανθρώπινη υγεία. Υπάρχει άλλωστε

μεγάλο ενδιαφέρον ώστε να πραγματοποιηθούν τέτοιες μελλοντικές εργασίες πάνω σε αυτόν τον τομέα, οι οποίες θα προχωρούν στην εμβάθυνση των τωρινών ερευνητικών δεδομένων, καθώς και στην επέκταση σε θέματα του μικροβιώματος και των αλληλεπιδράσεων μεταξύ αυτού, του ξενιστή και του περιβάλλοντος. Αυτό διότι, συνεχίζοντας την έρευνα σχετικά με το εντερικό μικροβίωμα στην τροφική αλλεργία και δυσανεξία, μπορεί να βελτιωθεί η κατανόησή μας στον τομέα αυτόν, ακόμη και να αντληθούν νέες προσεγγίσεις τόσο για την πρόληψη όσο και για τη θεραπεία τους.

Ο στόχος αυτής της μελέτης, ήταν να εμβαθύνει στην επιστημονική βιβλιογραφία σχετικά με το ρόλο του ανθρώπινου εντερικού μικροβιώματος στην παθογένεση και στη μετέπειτα εξέλιξη, επιλεγμένων δυσανεξιών και αλλεργικών παθήσεων. Ένα θέμα, το οποίο απασχόλησε ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια την επιστημονική κοινότητα. Εν κατακλείδι, αναγνωρίστηκε το γεγονός ότι η μελέτη και η γνώση για το ρόλο του εντερικού μικροβιώματος στον άνθρωπο, είναι ένας πολύτιμος αναδυόμενος τομέας μελέτης, ο οποίος έχει άφθονες δυνατότητες ανάπτυξης νέων κατευθύνσεων και στρατηγικών, προς αντιμετώπιση τόσο των τροφικών και μη αλλεργιών και δυσανεξιών, όσο και πλήθους άλλων ασθενειών (Huang YJ, Marsland BJ et al. 2017).

Οι τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες, είναι από τις πιο κοινές διαταραχές, οι οποίες εμφανίζονται μάλιστα, από την παιδική κιόλας ηλικία. Το γεγονός αυτό στις μέρες μας, έχει θεωρηθεί ως παγκόσμιο πρόβλημα υγείας, ιδιαίτερα στον βιομηχανικό κόσμο, γεγονός το οποίο καθιστά τις τροφικές αλλεργίες και δυσανεξίες ένα ζήτημα το οποίο ένας διαιτολόγος θα κληθεί αρκετά συχνά να διαχειριστεί. Γι'αυτό το λόγο, ο ρόλος του διαιτολόγου είναι να είναι συνεχώς ενημερωμένος για τα νέα δεδομένα της επιστήμης, ώστε να είναι σε θέση να βοηθήσει με τον καλύτερο δυνατό τρόπο τους πελάτες του, προτείνοντας όπου κρίνεται αναγκαίο τα κατάλληλα προβιοτικά ή και πρεβιοτικά (π.χ. ολιγοφρουκτόζες, ινουλίνη, βολβούς, κ.ά.) και φυσικά την ποικιλότητα στην τροφή για την επαγωγή της υγείας και της υγιούς ισορροπίας του μικροβιακού τους οικοσυστήματος.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

Aagaard K., Ma J., Antony K.M., Ganu R., Petrosino J., Versalovic J. (2014) The placenta harbors a unique microbiome. *Sci. Transl. Med.* ;6:237ra65. doi: 10.1126/scitranslmed.3008599.

Abrahamsson T.R., Jakobsson H.E., Andersson A.F., Bjorksten B., Engstrand L., Jenmalm M.C. (2014) Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin Exp Allergy.* ;44:842–850.

Adams K.M., Lukas J., Kapur R.P., Stevens A.M. (2007) LPS induces translocation of TLR4 in amniotic epithelium. *Placenta.* ;28:477–481. doi: 10.1016/j.placenta.2006.08.004.

ADLERBERTH I, WOLD AE. (2009) Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr.* 98:229–238

Adolfsson O., Meydani S.N. and Russel R.M. (2004). Yogurt and gut function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 80 no.2 245-256.

Adolph TE, et al. (2013) Paneth cells as a site of origin for intestinal inflammation. *Nature.* ;503:272–276.

Agostoni et al. (2004) Probiotic bacteria in dietetic products for infants: A commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 38:365-374

Agustina R., Lukito W., Firmansyah A., Suhardjo H.N., Murniati D., Bindels J. (2007) The effect of early nutritional supplementation with a mixture of probiotic, prebiotic, fiber and micronutrients in infants with acute diarrhea in Indonesia. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* ;16:435–442.

Aitoro R., Paparo L., Amoroso A. (2017) Gut microbiota as a target for preventive and therapeutic intervention against. *Food Allergy. Nutrients.* ;9:672.

Albalak A, Zeidel ML, Zucker SD, Jackson AA, Donovan JM. (1996) Effects of submicellar bile salt concentrations on biological membrane permeability to low molecular weight non-ionic solutes. *Biochemistry.* ;35:7936–45. doi: 10.1021/bi960497i.

Almansa C, Krishna M, Buchner AM, et al. (2009) Seasonal distribution in newly diagnosed cases of eosinophilic esophagitis in Adults. *Am J Gastroenterol* 2009; 104:828-33.

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

American Academy of Pediatrics: (2000) Committee on Nutrition Hypoallergenic infant formulas. *Pediatrics*.;106(2 Pt 1):346–49.

ANDERSON JL, EDNEY RJ, WHELAN K. (2012) Systematic review: Faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 36:503–516

Andrews CN, Griffiths TA, Kaufman J, et al. (2011) Mesalazine (5-aminosalicylic acid) alters faecal bacterial profiles, but not mucosal proteolytic activity in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*.;34(3):374–83.

Andrews CN, et al. (2011) Mesalazine (5-aminosalicylic acid) alters faecal bacterial profiles, but not mucosal proteolytic activity in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. ;34:374–383. doi: 10.1111/j.1365-2036.2011.04732.x.

Arrieta M.C., Sadarangani M., Brown E.M., Russell S.L., Nimmo M., Dean J., Turvey S.E., Chan E.S., Finlay B.B. (2016) A humanized microbiota mouse model of ovalbumin-induced lung inflammation. *Gut Microbes*. 7:342–352. doi: 10.1080/19490976.2016.1182293.

Arpaia N, Campbell C, Fan X, et al. (2013) Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*.;504: 451e455.

Arumugam, M., J. Raes, et al. (2011). "Enterotypes of the human gut microbiome." *Nature* 473(7346): 174- 180.

Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., ... & Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., ... & Taniguchi, T. (2011). Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*, 331(6015), 337-341.

- Atsushi Nishida, Ryo Inoue, Osamu Inatomi, Shigeaki Bamba, Yuji Naito & Akira Andoh (2018). *Clinical Journal of Gastroenterology* volume 11, pages1–10
- Azad MB, Konya T, Guttman DS, et al. (2015) Infant gut microbiota and food sensitization: associations in the first year of life. *Clin Exp Allergy*. -45:632e643.
- Bäckhed F., Roswall J., Peng Y., Feng Q., Jia H., Kovatcheva-Datchary P., Li Y., Xia Y., Xie H., Zhong H., et al. (2015) Dynamic and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe*. ;17:690–703. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.004.
- Baldassarre ME, Laforgia N, Fanelli M, et al. (2010) Lactobacillus GG improves recovery in infants with blood in the stools and presumptive allergic colitis compared with extensively hydrolyzed formula alone. *J Pediatr*. ;156(3):397–401.
- Barbara B. Warner and Phillip I. (2016) Tarr Necrotizing enterocolitis and preterm infant gut bacteria *Semin Fetal Neonatal Med*. Dec; 21(6): 394–399.
- Baron SF, Franklund CV, Hylemon PB. (1991) Cloning, sequencing, and expression of the gene coding for bile acid 7 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase from *Eubacterium* sp. strain VPI 12708. *J Bacteriol*. ;173:4558–69.
- BARZEGARI A, SAEI AA. (2012) Designing probiotics with respect to the native microbiome. *Future Microbiol*, 7:571–575
- Bashiardes S, Godneva A, Elinav E, Segal E. (2018) Owards utilization of the human genome and microbiome for personalized nutrition. *Curr Opin Biotechnol*. Jun; 51():57-63.
- Begley M, Gahan CGM, Hill C. (2004) The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol Rev*. 2005a;29:625–51. doi: 10.1016/j.femsre.09.003.
- Begley M, Sleator RD, Gahan CGM, Hill C. (2005) Contribution of three bile-associated loci, *bsh*, *pva*, and *btlB*, to gastrointestinal persistence and bile tolerance of *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun*. b;73:894–904. doi: 10.1128/IAI.73.2.894-904.2005.
- Bell EF. (2005) Preventing necrotizing enterocolitis: what works and how safe? *Pediatrics*. ;115:173–4.
- Bennet JD, Brinkman M. (1989) Treatment of ulcerative colitis by implantation of normal colonic flora. *Lancet*. ;1:164. doi: 10.1016/S0140-6736(89)91183-5.

Berin MC, Mayer L. (2009) Immunophysiology of experimental food allergy. *Mucosal Immunol.* ;2:24–32. doi: 10.1038/mi.2008.72.

Berni Canani R, Costanzo MD, Leone L, Pedata M, Meli R, Calignano A. (2011) Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World J Gastroenterol.* 17:1519–28.

Berni Canani R, Nocerino R, Terrin G, et al. (2012) Effect of *Lactobacillus* GG on tolerance acquisition in infants with cow's milk allergy: a randomized trial. *J Allergy Clin Immunol.*;129:580e582

Berni Canani R, Nocerino R, Terrin G, et al. (2013) Formula selection for management of children with cow's milk allergy influences the rate of acquisition of tolerance: A prospective multicenter study. *J Pediatr.* ;163(3):771–7.e1.

Berni Canani R, Nocerino R, Terrin G, Leone L, Troncone R. (2012) Hospital admissions for food-induced anaphylaxis in Italian children. *Clin Exp Allergy* 42:1813–4. 10.1111/cea.12036

Berni Canani R, Sangwan N, Stefka AT, et al. (2016) *Lactobacillus rhamnosus* GG-supplemented formula expands butyrate-producing bacterial strains in food allergic infants. *ISME J.*;10:742e750.

Berni Canani R, Sangwan N, Stefka AT, Nocerino R, Paparo L, Aitoro R, et al. (2016) *Lactobacillus rhamnosus* GG supplemented formula expands butyrate producing bacterial strains in food allergic infants. *ISME J.* 10:742–50. 10.1038/ismej.2015.151

Bernstein C, Bernstein H, Payne CM, Beard SE, Schneider J. (1999) Bile salt activation of stress response promoters in *Escherichia coli*. *Curr Microbiol.* ;39:68–72. doi: 10.1007/s002849900420.

Bisgaard H., Li N., Bonnelykke K. (2011) Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy is associated with increased risk of allergic disease at school age. *J Allergy Clin Immunol.* ;128:646–652. e1-5

BJÖRKSTÉN B, SEPP E, JULGE K, VOOR T, MIKELSAAR M. (2001) Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol*, 108:516–520

Bloomfield S.F., Rook G.A., Scott E.A., Shanahan F., Stanwell-Smith R., Turner P. (2016) Time to abandon the hygiene hypothesis: New perspectives on allergic disease, the human

microbiome, infectious disease prevention and the role of targeted hygiene. *Perspect. Public Health.* ;136:213–224. doi: 10.1177/1757913916650225

BOURLIOUX P, BOULEY C, ASHWELL M. (2003) New aspects of the functionalities of probiotics. *Forum Nutr* 2003, 56:355–356

Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, et al. (2010) Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *J Allergy Clin Immunology* 126:1105–18. 10.1016/j.jaci.2010.10.007

Boyle R, Nelson JS, Stonestreet BS, Peter G, Oh W. (1978) Alterations in stool flora resulting from oral kanamycin prophylaxis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr.* ;93:857–61.

Brinkworth, G. D., Noakes, M., Clifton, P. M., & Bird, A. R. (2009). Comparative effects of very low-carbohydrate, high-fat and high-carbohydrate, low-fat weight-loss diets on bowel habit and faecal short-chain fatty acids and bacterial populations. *British journal of nutrition*, 101(10), 1493-1502.

Brower-Sinning R, Zhong D, Good M, et al. (2014) Mucosa-associated bacterial diversity in necrotizing enterocolitis. *PloS One.* ;9:e105046.

Brule S., Ambroise J., Lecloux H., Levard C., Soulas R., De Temmerman P.J., Palmair-Pallag M., Marbaix E., Lison D. (2016) Dietary silver nanoparticles can disturb the gut microbiota in mice. *Part. Fibre Toxicol.* ;13:38. doi: 10.1186/s12989-016-0149-1

Bunyavanich S, Schadt EE. (2015) Systems biology of asthma and allergic diseases: a multiscale approach. *J Allergy Clin Immunol.*;135:31e42.

Bunyavanich S, Shen N, Grishin A, et al. (2016) Early-life gut microbiome composition and milk allergy resolution. *J Allergy Clin Immunol.*;138:1122e1130

Burks AW, Harthoorn LF, Van Ampting MT, et al. (2015) Synbiotics-supplemented amino acid-based formula supports adequate growth in cow's milk allergic infants. *Pediatr Allergy Immunol.*;26:316e322.

Bury RG, Tudehope D. (2001) Enteral antibiotics for preventing necrotizing enterocolitis in low birthweight or preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* ;(1):CD000405.

Busquets D, Mas-de-Xaxars T, Lopez-Siles M, et al. (2015) Anti-tumour necrosis factor treatment with adalimumab induces changes in the microbiota of Crohn's Disease. *J Crohns Colitis*.;9(10):899–906.

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

Cahenzli J, Koller Y, Wyss M, Geuking MB, McCoy KD. (2013) Intestinal microbial diversity during early-life colonization shapes long-term IgE levels. *Cell Host Microbe*.;14:559e570.

Caminero A., Galipeau H.J., McCarville J.L., Johnston C.W., Bernier S.P., Russell A.K., Jury J., Herran A.R., Casqueiro J., Tye-Din J.A., et al. (2016) Duodenal bacteria from patients with celiac disease and healthy subjects distinctly affect gluten breakdown and immunogenicity. *Gastroenterology*. ;151:670–683. doi: 10.1053/j.gastro.2016.06.041

Caminero A., Herran A.R., Nistal A., Pérez-Andrés J., Vaquero L., Vivas S., Ruiz de Morales J.M., Albillos S.M., Casqueiro J. (2014) Diversity of the cultivable human gut microbiome involved in gluten metabolism: Isolation of microorganisms with potential interest for coeliac disease. *FEMS Microbiol. Ecol.* ;88:309–319. doi: 10.1111/1574-6941.12295.

Candela, M., E. Biagi, et al. (2015). "Dynamic efficiency of the human intestinal microbiota." *Crit Rev Microbiol* 41(2): 165-171.

Canova C., Zabeo V., Pitter G., Romor P., Baldovin T., Zanotti R., Simonato L. (2014) Association of maternal education, early infections and antibiotic use with celiac disease: A population based birth cohort study in northeastern Italy. *Am. J. Epidemiol.* ;180:76–85. doi: 10.1093/aje/kwu101.

Cao S, Feehley TJ, Nagler CR. (2014) The role of commensal bacteria in the regulation of sensitization to food allergens. *FEBS Lett.* ;588:4258–4266. doi: 10.1016/j.febslet.2014.04.026.

Carson R. (1962) *The Silent Spring*. 1-Boston, MA: Riverside Press

Castro-Rodríguez JA, Garcia-Marcos L. (2017) What are the effects of a Mediterranean diet on allergies and asthma in children? *Front Pediatr.* 5:72. 10.3389/fped.2017.00072

Caminero A., Galipeau H.J., McCarville J.L., Johnston C.W., Bernier S.P., Russell A.K., Jury J., Herran A.R., Casqueiro J., Tye-Din J.A., et al. (2016) Duodenal bacteria from patients with celiac disease and healthy subjects distinctly affect gluten breakdown and immunogenicity. *Gastroenterology*. ;151:670–683. doi: 10.1053/j.gastro.2016.06.041.

Chih-Yung Chiu, Yi-Ling Chan, Ming-Han Tsai, Chia-Jung Wang, Meng-Han Chiang, and Chun-Che Chiu (2019) Gut microbial dysbiosis is associated with allergen-specific IgE responses in young children with airway allergies *World Allergy Organ J*; 12(3): 100021.

Chiu C.Y., Huang Y.L., Tsai M.H. (2014) Sensitization to food and inhalant allergens in relation to atopic diseases in early childhood: a birth cohort study. *PLoS One*. ;9:e102809

Cho I, Blaser MJ. (2012) The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet*. ;13:260–70.

Cinova J., DePalma G., Stepankova R., Kofronova O., Kverka M., Sanz Y., Tuckova L. (2011) Role of intestinal bacteria in gliadin-induced changes in intestinal mucosa: Study in germ free rats. *PLoS ONE*. ;6:e16169. doi: 10.1371/journal.pone.0016169.

CLAESSON MJ, JEFFERY IB, CONDE S, POWER SE, O'CONNOR EM, CUSACK S ET AL. (2012) Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*, 488:178–184

Claud EC, Walker WA. (2001) Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *FASEB J*. ;15:1398–1403.

Collado M.C., Donat E., Ribes-Koninckx C., Calabuig M., Sanz Y. (2009) Specific duodenal and faecal bacteria groups associated with paediatric coeliac disease. *J. Clin. Pathol*. ;62:264–269. doi: 10.1136/jcp.2008.061366.

Cuello-Garcia CA, Brozek JL, Fiocchi A, et al. (2015) Probiotics for the prevention of allergy: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Allergy Clin Immunol*.;136:952e961

De Boever P, Wouters R, Verschaeve L, Berckmans P, Schoeters G, Verstraete W. (2000) Protective effect of the bile salt hydrolase-active *Lactobacillus reuteri* against bile salt cytotoxicity. *Appl Microbiol Biotechnol*. ;53:709–714. doi: 10.1007/s002530000330.

DE FILIPPO C, CAVALIERI D, DI PAOLA M, RAMAZZOTTI M, POULLET JB, MASSART S ET AL. (2010) Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a

comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107:14691–14696

Del Piano M., Morelli L., Strozzi G.P., Allesina S., Barba M., Deida F., Lorenzini P., Ballare M., Montino F., Orsello M., Sartori M., Garello E., Carmagnola S., Pagliarulo M., Capurso L. (2006). Probiotics: from research to consumer. *Digestive and Liver Disease*, 38, 248-255

De Palma G., Nadal I., Medina M., Donat E., Ribes-Koninckx C., Calabuig M., Sanz Y. (2010) Intestinal dysbiosis and reduced immunoglobulin-coated bacteria associated with coeliac disease in children. *BMC Microbiol.* ;10:63. doi: 10.1186/1471-2180-10-63.

Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, Kamada N, Hickey CA, Wolter M, et al. (2016) A dietary fiber–deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell* 167:1339. 10.1016/j.cell.2016.10.043

Devaraj S. et al. (2013) “The Human Gut Microbiome and Body Metabolism: Implications for Obesity and Diabetes” *Clin Chem* 59 (4) p.617-628.

Dey N, et al. (2013) Association of gut microbiota with post-operative clinical course in Crohn’s disease. *BMC Gastroenterol.* ;13:131. doi: 10.1186/1471-230X-13-131

Di Costanzo M, Paparo L, Aitoro R, Cosenza L, Nocerino R, Cozzolino T, et al. (2014) Potential Beneficial Effects of Butyrate against Food Allergy. In: Cong–Jun Li, editors. *Butyrate: Food Sources, Functions and Health Benefits*. New York, NY: Biochemistry Research Trends;. p. 81–90.

Di Cagno R., De Angelis M., De Pasquale I., Ndagijimana M., Vernocchi P., Ricciuti P., Gagliardi F., Laghi L., Crecchio C., Guerzoni M.E., et al. (2011) Duodenal and faecal microbiota of celiac children: Molecular, phenotype and metabolome characterization. *BMC Microbiol.* ;11:219. doi: 10.1186/1471-2180-11-219

DiGiulio, D. B. (2012). Diversity of microbes in amniotic fluid. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* (Vol. 17, No. 1, pp. 2-11). WB Saunders.

Dudefoi W., Moniz K., Allen-Vercoe E., Ropers M.H., Walker V.K. (2017) Impact of food grade and nano-TiO₂ particles on human intestinal community. *Food Chem. Toxicol.* ;106:242–249. doi: 10.1016/j.fct.2017.05.050.

DUMAS ME. (2011) The microbial-mammalian metabolic axis: Beyond simple metabolism. *Cell Metab*, 13:489–490

- Duncan, Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Louis, P., & Flint, H. J. (2007). Cultivable bacterial diversity from the human colon. *Letters in applied microbiology*, 44(4), 343-350
- Eckburg PB, et al. (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. ;308:1635–1638. doi: 10.1126/science.1110591
- Edmond LM, Hopkins MJ, Magee EA, et al. (2003) The effect of 5-aminosalicylic acid-containing drugs on sulfide production by sulfate-reducing and amino acid-fermenting bacteria. *Inflamm Bowel Dis*.;9(1):10–7.
- Egan EA, Mantilla G, Nelson RM, Eitzman DV. (1976) A prospective controlled trial of oral kanamycin in the prevention of neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr*. ;89:467–70
- Ehrlich R.I., Du Toit D., Jordaan E. (1996) Risk factors for childhood asthma and wheezing. Importance of maternal and household smoking. *Am J Respir Crit Care Med*. ;154:681–688
- FAO/WHO. (2001) Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Expert Consultation Report : Cordoba, Argentina : Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization.
- FERREIRA C, VELDHOEN M. (2012) Host and microbes date exclusively. *Cell*, 149:1428–1430
- Dunn C., House, L, Shelnutt, K.P. (2014). Consumer perceptions of glutenfree products and the healthfulness of gluten-free diets. *Journal of Nutrition Education and Behavior* 46:5184–5185.
- Feehley T, Stefka AT, Cao S, Nagler CR. (2012) Microbial regulation of allergic responses to food. *Semin Immunopathol*. ;34:671–688. doi: 10.1007/s00281-012-0337-5
- Fiocchi A, Pawankar R, Cuello-Garcia C, et al. (2015) World Allergy Organization McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics. *World Allergy Organ J*.;8:4.
- Fleischer DM, Perry TT, Atkins D, et al. (2012) Allergic reactions to foods in preschool-aged children in a prospective observational food allergy study *Pediatrics*. ;130(1):e25–e32.

- Fontenelle B, Gilbert KM. (2012) n-Butyrate energized effector CD4⁺T cell generation or activity. *Scand J Immunol.* 76:457–63. 10.1111/j.1365-3083.2012.02740.x
- Fooks L.J., Gibson G.R. (2002). Probiotics as modulators of the gut flora. *Br J Nutr.* 88(1):S39–S49.
- Forno E., Celedon J.C. (2012) Predicting asthma exacerbations in children. *Curr. Opin. Pulm. Med.* ;18:63–69. doi: 10.1097/MCP.0b013e32834db288.
- Francavilla R., De Angelis M., Rizzello C.G., Cavallo N., Dal Bello F., Gobbetti M. (2017) Selected Probiotic Lactobacilli Have the Capacity To Hydrolyze Gluten Peptides during Simulated Gastrointestinal Digestion. *Appl. Environ. Microbiol.* ;83:e00376. doi: 10.1128/AEM.00376-17.
- Frank DN, et al. (2007) Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* ;104:13780–13785. doi: 10.1073/pnas.0706625104
- Frank, D. N., A. L. St Amand, et al. (2007). "Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases." *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(34): 13780-13785.
- Frank DN, et al. (2011) Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-associated microbiota in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* ;17:179–184. doi: 10.1002/ibd.21339.
- Fukoto TR. (1990) Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environ Health Perspect.* ;87:245–54. doi: 10.1289/ehp.9087245
- Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, et al. (2013) Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature.*;504: 446e450
- Gagniere, J., J. Raisch, et al. (2016). "Gut microbiota imbalance and colorectal cancer." *World J Gastroenterol* 22(2): 501-518.
- Galli S.J., Tsai M. (2012) IgE and mast cells in allergic disease. *Nat Med.* ;18:693–704.
- Ganesan Velmurugan, Tharmarajan Ramprasath, Krishnan Swaminathan, Gilles Mithieux, Jeyaprakash Rajendhran, et al. (2017) Gut microbial degradation of organophosphate insecticides-induces glucose intolerance via gluconeogenesis *Genome Biol.* 2017; 18: 8. Published online 2017 Jan 24. doi: 10.1186/s13059-016-1134-6

Gevers D, et al. (2014) The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe*. 2014;15:382–392. doi: 10.1016/j.chom.2014.02.005

Gianotti L, et al. (2010) A randomized double-blind trial on perioperative administration of probiotics in colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol*. Jan;16(2):167–175

Gibson GR, Beatty ER, Wang X, Cummings JH. (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 108:975-82; PMID:7698613;

Gibson GR, Probert HM, Van Loo J, Rastall RA, Roberfroid MB. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev* 17:259-75; PMID:19079930 <http://dx.doi.org/10.1079/NRR200479>

Gil A, Bengmark S. (2006) Control biológico y nutricional de la enfermedad: prebióticos, probióticos y simbióticos. *Nutrición Hospitalaria*. 21:73–86.

Gilbert JA, Quinn RA, Debelius J, et al. (2016) Microbiome-wide association studies link dynamic microbial consortia to disease. *Nature*.;535:94e103

Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, Jansson JK, Lynch SV, Knight R (2018) *Nat Med*. Apr 10; 24(4):392-400.

Gionchetti P, et al. (2000) Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*. ;119:305–309. doi: 10.1053/gast.2000.9370.

Gradel KO, Nielsen HL, Schonheyder HC, et al. (2009) Increased short- and long-term risk of inflammatory bowel disease after salmonella or campylobacter gastroenteritis. *Gastroenterology*.;137(2):495–501.

Grylack L, Boehnert J, Scanlon J. (1982) Serum concentrations of gentamicin following oral administration to preterm newborns. *Dev Pharmacol Therapeut*. ;5:47–52.

Grylack L, Neugebauer D, Scanlon JW. (1982) Effects of oral antibiotics on stool flora and overall sensitivity patterns in an intensive care nursery. *Pediatr Res*. ;16:509–11

Grylack LJ, Scanlon JW. (1978) Oral gentamicin therapy in the prevention of neonatal necrotizing enterocolitis. A controlled double-blind trial. *Am J Dis Child*. ;132:1192–4

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

Gut Microbiota for Health. (2017). Gut Microbiota Info - Gut Microbiota for Health. [online] Available at: <http://www.gutmicrobiotaforhealth.com/en/about-gut-microbiotainfo/> [Accessed 3 Jun. 2017].

Hackam DJ, Afrazi A, Good M, Sodhi CP. (2013) Innate immune signaling in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Clin Dev Immunol.*;2013:475415.

Haiser HJ, Gootenberg DB, Chatman K, Sirasani G, Balskus EP, Turnbaugh PJ. (2013) Predicting and manipulating cardiac drug inactivation by the human gut bacterium *Eggerthella lenta*. *Science.* ;341:295–8. doi: 10.1126/science.1235872.

Hansen, C. H. F., Krych, Ł., Buschard, K., Metzdorff, S. B., Nellesmann, C., Hansen, L. H., & Hansen, A. K. (2014). A maternal gluten-free diet reduces inflammation and diabetes incidence in the offspring of NOD mice. *Diabetes*, 63(8), 2821-2832

Harishankar MK, Sasikala C, Ramya M. (2013) Efficiency of the intestinal bacteria in the degradation of the toxic pesticide, chlorpyrifos. *Biotech.* ;3:137–42

Haro, C., S. Garcia-Carpintero, et al. (2016). "The gut microbial community in metabolic syndrome patients is modified by diet." *J Nutr Biochem* 27: 27-31.

Heida FH, van Zoonen AG, Hulscher JB, et al. (2016) A necrotizing enterocolitis-associated gut microbiota is present in the meconium: results of a prospective study. *Clin Infect Dis.* ;62:863–70.

Herran A.R., Perez-Andres J., Caminero A., Nistal E., Vivas S., Ruiz de Morales J.M., Casqueiro J. (2017) Gluten-degrading bacteria are present in human small intestine of healthy volunteers and celiac patients. *Res. Microbiol.* 2017;168:673–684. doi: 10.1016/j.resmic..04.008.

Herzog R., Cunningham-Rundles S. (2011) Pediatric asthma: natural history, assessment, and treatment. *Mt Sinai J Med.* ;78:645–660

Heyman M., Abed J., Lebreton C., Cerf-Bensussan N. (2012) Intestinal permeability in coeliac disease: Insight into mechanisms and relevance to pathogenesis. *Gut.*;61:1355–1364. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300327.0

Hill DA, Spergel JM. (2018) The atopic march: critical evidence and clinical relevance. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 120:131–7. 10.1016/j.anai.2017.10.037

- Hills R.D., Jr., Pontefract B.A., Mishcon H.R., Black C.A., Sutton S.C., Theberge C.R. (2019) Gut Microbiome: Profound Implications for Diet and Disease *Nutrients*;11:1613. doi: 10.3390/nu11071613
- Holgate ST. (1999) The epidemic of allergy and asthma. *Nature.* ;402:B2–B4. doi: 10.1038/35037000.
- Hol J, van Leer EH, Elink Schuurman BE, et al. (2008) The acquisition of tolerance toward cow's milk through probiotic supplementation: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.*;121:1448e1454.
- Honda H., Kataoka F., Nagaoka S., Kawai Y., Kitazawa H., Itoh H., Kimura K., Taketomo N., Yamazaki Y., Tateno Y., Saito T. (2007) Beta-galactosidase, phospho-beta-galactosidase and phospho-beta-glucosidase activities in lactobacilli strains isolated from human faeces. *Lett. Appl. Microbiol.*;45:461–466. doi: 10.1111/j.1472-765X.2007.02176.x.
- Hord N.G. (2008) Eukaryotic-microbiota crosstalk: potential mechanisms for health benefits of prebiotics and probiotics. *Annu Rev Nutr.* 28:215–231
- Hong X, Hao K, Ladd-Acosta C, et al. (2015) Genome-wide association study identifies peanut allergy-specific loci and evidence of epigenetic mediation in US children. *Nat Commun.*;6:6304.
- Host A., Andrae S., Charkin S. (2003) Allergy testing in children: why, who, when and how? *Allergy.*;58:559–569
- Houghton, D., C. J. Stewart, et al. (2016). "Gut Microbiota and Lifestyle Interventions in NAFLD." *Int J Mol Sci* 17(4).
- Huang YJ, Marsland BJ, Bunyavanich S, et al. (2019) The microbiome in allergic disease: current understanding and future opportunitiesd2017 PRACTALL document of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology and the W. Zhao et al. / *Ann Allergy Asthma Immunol* 122 276e282 281 European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;139:1099e1110
- HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM. (2012) Structure, functions and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012, 486:207–214

- Hu, Y., Yang, X., Qin, J., Lu, N., Cheng, G., Wu, N., & Meng, Z. (2013). Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota. *Nature communications*, 4, 2151
- Hviid A, Svanstrom H, Frisch M. Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. *Gut* 2011; 60:49-54
- Imhann, F., Bonder, M. J., Vila, A. V., Fu, J., Mujagic, Z., Vork, L., ... & Dijkstra, G. (2016). Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. *Gut*, 65(5), 740-748.
- Jayaraman, R. (2009). Mutators and hypermutability in bacteria: the *Escherichia coli* paradigm. *Journal of genetics*, 88(3), 379-391.
- Ivanov II, Atarashi K, Manel N, et al. (2009) Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*. ;139(3):485–498. doi: 10.1016/j.cell.2009.09.033.
- Ivarsson A., Hernell O., Stenlund H., Persson L.A. (2002) Breast-feeding protects against celiac disease. *Am. J. Clin. Nutr.* ;75:914–921. doi: 10.1093/ajcn/75.5.914.
- Jandhyala S.M., Talukdar R., Subramanyam C., Vuyyuru H., Sasikala M., Nageshwar Reddy D. (2015) Role of the normal gut microbiota. *World J. Gastroenterol.*;21:8787–8803. doi: 10.3748/wjg.v21.i29.8787.
- J.K. Nicholson, E. Holmes, J. Kinross, R. Burcelin, G. Gibson, W. Jia, *et al.* (2012) Host-gut microbiota metabolic interactions *Jeremy Science*, 108 , pp. 1262-1268
- Joossens M, et al. (2011) Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut*. ;60:631–637. doi: 10.1136/gut.2010.223263.
- Jostins L, Ripke S, Weersma RK, et al. (2012) Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature.*; 491:119–124. doi: 10.1038/nature11582.
- Kakiyama G, Pandak WM, Gillevet PM, Hylemon PB, Heuman DM, Daita K, Takei H, Muto A, Nittono H, Ridlon JM, White MB, Noble N a, Monteith P, Fuchs M, Thacker LR, Sikaroodi M, Bajaj JS. Modulation of the fecal bile acid profile by gut microbiota in cirrhosis. *J Hepatol*. 2013;58:949–55. doi: 10.1016/j.jhep.2013.01.003.
- Kandell RL, Bernstein C. (1991) Bile salt/acid induction of DNA damage in bacterial and mammalian cells: implications for colon cancer. *Nutr Cancer*. ;16:227–38. doi: 10.1080/01635589109514161.

Katsuyoshi Matsuoka and Takanori Kanai (2015) The gut microbiota and inflammatory bowel disease *Semin Immunopathol.*; 37: 47–55. Nov 25. doi: 10.1007/s00281-014-0454-4

Kim M, Qie Y, Park J, Kim CH. (2016) Gut microbial metabolites fuel host antibody responses. *Cell Host Microbe* 20:202–14. 10.1016/j.chom.2016.07.001

Kim SC, et al. (2005) Variable phenotypes of enterocolitis in interleukin 10-deficient mice monoassociated with two different commensal bacteria. *Gastroenterology.* ;128:891–906. doi: 10.1053/j.gastro.2005.02.009.

Knight R, Callewaert C, Marotz C, et al. (2017) The microbiome and human biology. *Annu Rev Genomics Hum Genet.*;18:65e86.

Kolmannskog S., Haneberg B. (1985) Immunoglobulin E in feces from children with allergy. Evidence of local production of IgE in the gut. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* ;76:133–137.

Kuo CH, Kuo HF, Huang CH, Yang SN, Lee MS, Hung CH. (2013) Early life exposure to antibiotics and the risk of childhood allergic diseases: an update from the perspective of the hygiene hypothesis. *J Microbiol Immunol Infect.* ;46:320–329. doi: 10.1016/j.jmii.2013.04.005.

Kunde S, et al. (2013) Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* ;56:597–601. doi: 10.1097/MPG.0b013e318292fa0d.

Lammers K.M., Lu R., Brownley J., Lu B., Gerard C., Thomas K., Rallabhandi P., Shea-Donohue T., Tamiz A., Alkan S., et al. (2008) Gliadin induces an Increase in intestinal permeability and Zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology.* ;135:194–204. doi: 10.1053/j.gastro.2008.03.023

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

La Rosa PS, Warner BB, Zhou Y, et al. (2014) Patterned progression of bacterial populations in the premature infant gut. *Proc Natl Acad Sci USA.* ;111:12522–7.

Lee, S. M., Han, H. W., & Yim, S. Y. (2015). Beneficial effects of soy milk and fiber on high cholesterol diet-induced alteration of gut microbiota and inflammatory gene expression in rats. *Food & function*, 6(2), 492-500.

- Lefebvre, P., B. Cariou, et al. (2009). "Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation." *Physiol Rev* 89(1): 147-191.
- Lepage P, et al. (2011) Twin study indicates loss of interaction between microbiota and mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2011;141:227–236. doi: 10.1053/j.gastro.04.011
- Leung ASY, Wong GWK, Tang MLK. (2018) Food allergy in the developing world. *J Allergy Clin Immunol*. 141:76–8. 10.1016/j.jaci.2017.11.008
- LIN HC, SU BH, CHEN AC. (2006) H2-blocker therapy and necrotizing enterocolitis for very low birth weight preterm infants. *Pediatrics* 2006, 118:1794–1795
- Lionetti E., Castellaneta S., Francavilla R., Pulvirenti A., Tonutti E., Amarri S., Barbato M., Barbera C., Barera G., Bellantoni A., et al. (2014) Introduction of gluten, HLA status, and the risk of celiac disease in children. *N. Engl. J. Med.* ;371:295–303. doi: 10.1056/NEJMoa1400697.
- Li XM, Serebrisky D, Lee SY, Huang CK, Bardina L, Schofield BH, Stanley JS, Burks AW, Bannon GA, Sampson HA. (2000) A murine model of peanut anaphylaxis: T- and B-cell responses to a major peanut allergen mimic human responses. *J Allergy Clin Immunol.* ;106:150–158. doi: 10.1067/mai.2000.107395
- Loh W, Tang MLK. (2018) The epidemiology of food allergy in the global context. *Int J Environ Res Public Health* 15:2043. 10.3390/ijerph15092043
- Lorenzo Pisarello M.J., Vintiñi E.O., González S.N., Pagani F., Medina M.S. (2015) Decrease in lactobacilli in the intestinal microbiota of celiac children with a gluten-free diet, and selection of potentially probiotic strains. *Can. J. Microbiol.* ;61:32–37. doi: 10.1139/cjm-2014-0472.
- McKenzie C, Tan J, Macia L, Mackay CR. (2017) The nutrition–gut microbiome–physiology axis and allergic diseases. *Immunol Rev.* 278:277–95. 10.1111/imr.12556
- Morgan XC, et al. (2012) Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biol.* ;13:R79. doi: 10.1186/gb-2012-13-9-r79.
- Ludvigsson J.F., Leffler D.A., Bai J.C., Biagi F., Fasano A., Green P.H., Hadjivassiliou M., Kaukinen K., Kelly C.P., Leonard J.N., et al. (2013) The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut.* ;62:43–52. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301346.

- Ma N, Guo P, Zhang J, He T, Kim SW, Zhang G, et al. (2018) Nutrients mediate intestinal bacteria–mucosal immune cross talk. *Front Immunol.* 9:5 10.3389/fimmu.2018.00005
- MÄNDAR R, MIKELSAAR M. (1996) Transmission of mother’s microflora to the newborn at birth. *Biol Neonate*, 69:30–35
- M. Andrea Azcarate-Peril, Andrew J. Ritter, Dennis Savaiano, Andrea Monteagudo-Mera, Carlton Anderson, Scott T. Magness, and Todd R. Klaenhammer (2017) PNAS January 17, 114 (3) E367-E375; first published January 3, 2017 <https://doi.org/10.1073/pnas.1606722113>
- Magnusson MK, Strid H, Sapnara M, et al. (2016) Anti-TNF therapy response in patients with ulcerative colitis is associated with colonic antimicrobial peptide expression and microbiota composition. *J Crohns Colitis.*;10(8):943–52.
- Manichanh C, et al. (2006) Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn’s disease revealed by a metagenomic approach. *Gut.* ;55:205–211. doi: 10.1136/gut.2005.073817.
- Marenholz I, Grosche S, Kalb B, et al. (2017) Genome-wide association study identifies the SERPINB gene cluster as a susceptibility locus for food allergy. *Nat Commun.*;8:1056.
- Martinez C, et al. (2008) Unstable composition of the fecal microbiota in ulcerative colitis during clinical remission. *Am J Gastroenterol.* ;103:643–648. doi: 10.1111/j.1572-0241.2007.01592.x.
- Maskarinec G., Hullar M. (2020)” Understanding the Interaction of Diet Quality with the Gut Microbiome and Their Effect on Disease” *The Journal of Nutrition*, Volume 150, Issue 4, April 2020, Pages 654–655, <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa015>.
- Mathew J., Aronow W.S., Chandy D. (2012) Therapeutic options for severe asthma. *Arch. Med. Sci.* 2012;8:589–597. doi: 10.5114/aoms..30280.
- Matijasic, B. B., Obermajer, T., Lipoglavsek, L., Grabnar, I., Avgustin, G., & Rogelj, I. (2014). Association of dietary type with fecal microbiota in vegetarians and omnivores in Slovenia. *European journal of nutrition*, 53(4), 1051
- McCarville A., Dong J., Caminero A., Bermudez-Brito M., Jury J., Murray J.A., Steinmann M., Delley M., Tangyu M., Langella P., et al. (2017) Commensal *Bifidobacterium longum* Strain Prevents Gluten-Related Immunopathology in Mice through Expression of a Serine Protease Inhibitor. *J. Appl. Environ. Microbiol.* ;83:e01323. doi: 10.1128/AEM.01323-17

- Mimura T, et al. (2004) Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. *Gut*. ;53:108–114. doi: 10.1136/gut.53.1.108.
- Montgomery MP, Kamel F, Saldana TM, Alavanja MCR, Sandler DP. (2008) Incident diabetes and pesticide exposure among licensed pesticide applicators: the agricultural health study, 1993–2003. *Am J Epidemiol*. ;167:1235–46. doi: 10.1093/aje/kwn028.
- Morgan XC, Huttenhower C. (2012) Human microbiome analysis. *PLoS computational biology*. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002808.s001.
- Mshvildadze M, Neu J, Shuster J, Theriaque D, Li N, Mai V. (2010) Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques. *J Pediatr*. ;156:20–5.
- Nagano, Y. , Itoh K., and Honda K. (2012) The induction of Treg cells by gut-indigenous *Clostridium*. *Curr. Opin. Immunol*. 24:392–397.
- Namatovu F., Olsson C., Lindkvist M., Myléus A., Högberg U., Ivarsson A., Sandström O. (2016) Maternal and perinatal conditions and the risk of developing celiac disease during childhood. *BMC Pediatr*. ;16:77. doi: 10.1186/s12887-016-0613-y.
- Neu J, Walker WA. (2011) Necrotizing enterocolitis. *N Engl J Med*. ;364:255–64.
- Noval Rivas M, Burton OT, Wise P, Zhang YQ, Hobson SA, Garcia Lloret M, et al. (2013) A microbiota signature associated with experimental food allergy promotes allergic sensitization and anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 131:201–12. doi: 10.1016/j.jaci.2012.10.026
- NOVERR MC, HUFFNAGLE GB. (2005) The “microflora hypothesis” of allergic diseases. *Clin Exp Allergy*, 35:1511–1520
- Olivares M., Laparra M., Sanz Y. (2012) Influence of *Bifidobacterium longum* CECT 7347 and gliadin peptides on intestinal epithelial cell proteome. *J. Agric. Food Chem*. ;59:7666–7671. doi: 10.1021/jf201212m.
- Olivares M., Laparra M., Sanz Y. (2012) Oral administration of *Bifidobacterium longum* CECT 7347 modulates jejunal proteome in an in vivo gliadin-induced enteropathy animal model. *J. Proteom*. 77:310–320. doi: 10.1016/j.jprot.2012.09.005.

Olivares M., Neef A., Castillejo G., Palma G.D., Varea V., Capilla A., Palau F., Nova E., Marcos A., Polanco I., et al. (2015) The HLA-DQ2 genotype selects for early intestinal microbiota composition in infants at high risk of developing coeliac disease. *Gut*. ;64:406–417. doi: 10.1136/gutjnl-2014-306931.

Olszak T, An D, Zeissig S, et al. (2012) Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science*.;336:489e493.

Oriachad C.S. Robertsonbcd R., Stantoncd K., Cryande J., Dinanad T. (2016) “Food for thought: The role of nutrition in the microbiota-gut–brain axis” *Clinical Nutrition Experimental* V.6, p. 25-38.

Osborn DA, Sinn JK. (2007) Probiotics in infants for prevention of allergic disease and food hypersensitivity. *Cochrane Database Syst Rev*.:CD006475

Osborn DA, Sinn JK. (2013) Prebiotics in infants for prevention of allergy. *Cochrane Database Syst Rev*.:CD006474

Ott SJ, et al. (2008) Dynamics of the mucosa-associated flora in ulcerative colitis patients during remission and clinical relapse. *J Clin Microbiol*. ;46:3510–3513. doi: 10.1128/JCM.01512-08.

Oyoshi MK, Oettgen HC, Chatila TA, Geha RS, Bryce PJ. (2014) Food allergy: insights into etiology, prevention, and treatment provided by murine models. *J Allergy Clin Immunol*. ;133:309–317. doi: 10.1016/j.jaci.2013.12.1045.

Paola Vitellio, Giuseppe Celano, Leonilde Bonfrate, Marco Gobetti, Piero Portincasa, and Maria De Angelis (2019) Effects of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus rhamnosus* on Gut Microbiota in Patients with Lactose Intolerance and Persisting Functional Gastrointestinal Symptoms: A Randomised, Double-Blind, Cross-Over Study *Nutrients*. Apr; 11(4): 886. Published online 2019 Apr 19. doi: 10.3390/nu11040886

Paparo L, Aitoro R, Nocerino R, di Scala C, Di Costanzo M, Cosenza L, et al. (2018) Epigenetic regulation of early nutrition on immune system. In: Preedy VR, Patel VB, editors. *Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics* Cham: Springer International Publishing AG; 10.1007/978-3-319-31143-2_54-1

Papista C., Gerakopoulos V., Kourelis A., Sounidaki M., Kontana A., Berthelot L., Moura I.C., Monteiro R.C., Yiangou M. (2012) Gluten induces coeliac-like disease in sensitised

mice involving IgA, CD71 and transglutaminase 2 interactions that are prevented by probiotics. *Lab. Investig.* ;92:625–635. doi: 10.1038/labinvest.2012.13.

Penders J., Stobberingh E.E., van den Brandt P.A., Thijs C. (2007) The role of the intestinal microbiota in the development of atopic disorders. *Allergy.* ;62:1223–1236. doi: 10.1111/j.1398-9995.2007.01462.x.

Penders J., Thijs C., van den Brandt P.A., Kummeling I., Snijders B., Stelma F., Adams H., van Ree R., Stobberingh E.E. (2007) Gut composition and development of atopic manifestation in infancy. *Gut.* ;56:661–667. doi: 10.1136/gut.2006.100164.

Penders, J., Thijs, C., Vink, C., Stelma, F. F., Snijders, B., Kummeling, I., ... & Stobberingh, E. E. (2006). Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*, 118(2), 511-521.

Peters RL, Allen KJ, Dharmage SC, Lodge CJ, Koplin JJ, Ponsonby AL, et al. (2015) Differential factors associated with challenge–proven food allergy phenotypes in a population cohort of infants: a latent class analysis. *Clin Exp Allergy* 45:953–63. 10.1111/cea.12478

Pinto-Sanchez M.I., Verdu E.F., Liu E., Bercik P., Green P.H., Murray J.A., Guandalini S., Moayyedi P. (2016) Gluten introduction to infant feeding and risk of celiac disease: Systematic review and meta-analysis. *J. Pediatr.* ;168:132–143. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.09.032.

Pitcher MC, Beatty ER, Cummings JH. (2000) The contribution of sulphate reducing bacteria and 5-aminosalicylic acid to faecal sulphide in patients with ulcerative colitis. *Gut.*;46(1):64–72.

Plaza-Martin (2016) Food Allergies in Paediatrics: Current Concepts *An Pediatr (Barc)* Jul;85(1):50.e1-5. doi: 10.1016/j.anpedi.2016.01.017. Epub 2016 Mar 8 2016.

Plunkett C.H., Nagler C.R. (2017) The influence of the microbiome on allergic sensitization to food. *Immunol.* ;198:581–589. doi: 10.4049/jimmunol.1601266.

Pozo-Rubio T., de Palma G., Mujico J.R., Olivares M., Marcos A., Acuña M.D., Polanco I., Sanz Y., Nova E. (2013) Influence of early environmental factors on lymphocyte subsets and gut microbiota in infants at risk of celiac disease; the PROFICEL study. *Nutr. Hosp.* ;28:464–473.

Prescott S, Allen KJ. (2011) Food allergy: riding the second wave of the allergy epidemic. *Pediatr Allergy Immunol.* ;22:155–160. doi: 10.1111/j.1399-3038.2011.01145.x.

Purna C. Kashyap, Stephen Johnson, Debra M. Geno, Heather R. Lekatze, Crystal Lavey, Jeffrey A. Alexander, Jun Chen, and David A. Katzka (2019) A decreased abundance of clostridia characterizes the gut microbiota in eosinophilic esophagitis *Physiol Rep.* Oct; 7(20): e14261.

Queipo-Ortuño, M. I., Seoane, L. M., Murri, M., Pardo, M., Gomez-Zumaquero, J. M., Cardona, F., & Tinahones, F. J. (2013). Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels. *PloS one*, 8(5), e65465.

Radano, M. C. , Yuan Q., Katz A., Fleming J. T., Kubala S., Shreffler W., et al. (2014). Cesarean section and antibiotic use found to be associated with eosinophilic esophagitis. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2: 475–477.e1.

Rahimi R, Abdollahi M. (2007) A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. *Pesticide Biochem Physiol.* ;88:115–21. doi: 10.1016/j.pestbp..10.003.

Raveh-Sadka T, Thomas BC, Singh A, et al. (2015) Gut bacteria are rarely shared by co-hospitalized premature infants, regardless of necrotizing enterocolitis development. *eLife.* ;4

Raves N, et al. (2007) Effect of enteral nutrition and synbiotics on bacterial infection rates after pylorus-preserving pancreatoduodenectomy: a randomized, double-blind trial. *Ann Surg.* 246(1):36–41

Richa Chibbar and Levinus A. Dieleman. (2019) The Gut Microbiota in Celiac Disease and Probiotics Nutrients. Oct; 11(10): 2375. doi: 10.3390/nu11102375

Rizzello C.G., De Angelis M., Di Cagno R., Camarca A., Silano M., Losito I., De Vincenzi M., De Bari M.D., Palmisano F., Maurano F., et al. (2007) Highly efficient gluten degradation by lactobacilli and fungal proteases during food processing: New perspectives for celiac disease. *Environ. Appl. Microbiol.* ;73:4499–4507. doi: 10.1128/AEM.00260-07.

Roberto Berni Canani, Lorella Paparo, Rita Nocerino, Carmen Di Scala, Giusy Della Gatta, Ylenia Maddalena, Aniello Buono, Cristina Bruno, Luana Voto, and Danilo Ercolini

(2019) Gut Microbiome as Target for Innovative Strategies Against Food Allergy *Front Immunol*; 10: 191).

Rogers, M. A., & Aronoff, D. M. (2016). The influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the gut microbiome. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(2), 178-e1.

Rooks MG, Garrett WS. (2016) Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol*. 16:341–52. 10.1038/nri.2016.42

Round JL, Mazmanian SK. (2009) The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature reviews Immunology*. ;9(5):313–323

Rozlyn C. T. Boutin, Zach Dwyer, Kyle Farmer, Chris Rudyk, Mark R. Forbes, and Shawn Hayley (2018) Perinatal antibiotic exposure alters composition of murine gut microbiota and may influence later responses to peanut antigen *Allergy Asthma Clin Immunol.*; 14: 42. doi: 10.1186/s13223-018-0263-8

Rowley MP, Dahlenburg GW. (1978) Gentamicin in prophylaxis of neonatal necrotising enterocolitis. *Lancet*. ;2(8088):532.

Ruemmele F.M, et al. (2019) Clinical evidence for immunomodulatory effects of probiotic bacteria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009;48(2):126–141

Russell. J.T et al. “Genetic risk for autoimmunity is associated with distinct changes in the human gut microbiome” *Nature Communications* volume 10, Article number: 3621.

Russell SL, Gold MJ, Willing BP, Thorson L, McNagny KM, Finlay BB. (2013) Perinatal antibiotic treatment affects murine microbiota, immune responses and allergic asthma. *Gut Microbes*. ;4:158–164. doi: 10.4161/gmic.23567

Rutgeerts P, et al. (1991) Effect of faecal stream diversion on recurrence of Crohn’s disease in the neoterminal ileum. *Lancet*. ;338:771–774. doi: 10.1016/0140-6736(91)90663-A.

Saad SMI. (2006). Probiótico e Prebiótico: o estado da arte. *Rev Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 42:01–16

Saavedra JM. (2001) Clinical applications of probiotic agents. *Am J Clin Nutr*. 73(suppl):1147S–1151S.

Salzman NH, et al. (2010) Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology. *Nat Immunol*. ;11:76–83. doi: 10.1038/ni.1825

- Samuel P. Costello, Patrick A. Hughes, Oliver Waters, et al. (2019) JAMA. Effect of Fecal Microbiota Transplantation on 8-Week Remission in Patients With Ulcerative Colitis A Randomized Clinical Trial.;321(2):156-164
- SARTOR RB. (2008) Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 134:577–594
- Savage J.H., Lee-Sarwar K.A., Sordillo J. (2018) A prospective microbiome-wide association study of food sensitization and food allergy in early childhood. *Allergy*. ;73:145–152
- Savage J, Sicherer S, Wood R. (2016) The natural history of food allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 4:196–203. 10.1016/j.jaip.2015.11.024
- Savaiano DA, et al. (2013) Improving lactose digestion and symptoms of lactose intolerance with a novel galacto-oligosaccharide (RP-G28): A randomized, double-blind clinical trial. *Nutr J* 12:160.
- Schaafsma, G. (2008). Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. *International Dairy Journal*, 18, 458–465.
- Schauber J, Svanholm C, Termen S, Iffland K, Menzel T, Scheppach W, et al. (2003) Expression of the cathelicidin LL–37 is modulated by short chain fatty acids in colonocytes: relevance of signaling pathways. *Gut* 52:735–41.
- Schultz BM, Paduro CA, Salazar GA, et al. (2017) A potential role of salmonella infection in the onset of inflammatory bowel diseases. *Front Immunol*.;8:191.
- SEKIROV I, RUSSELL SL, ANTUNES LC, FINLAY BB. (2010) Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*, 90:859–904
- SGOURAS DN, PANAYOTOPOULOU EG, MARTINEZ-GONZALEZ B, PETRAKI K, MICHPOULOS S, MENTIS A. (2005) *Lactobacillus johnsonii* La1 attenuates *Helicobacter pylori*-associated gastritis and reduces levels of proinflammatory chemokines in C57BL/6 mice. *Clin Diagn Lab Immunol*, 12:1378–1386
- Shreiner A, Huffnagle GB, Noverr MC. (2008) The “Microflora Hypothesis” of allergic disease. *Adv Exp Med Biol*. ;635:113–34. Chapter 10.
- Sim K, Shaw AG, Randell P, et al. (2015) Dysbiosis anticipating necrotizing enterocolitis in very premature infants. *Clin Infect Dis*. ;60:389–97

SISK PM, LOVELADY CA, DILLARD RG, GRUBER KJ, O'SHEA TM. (2007) Early human milk feeding is associated with a lower risk of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *J Perinatol*, 27:428–433

SJÖGREN YM, JENMALM MC, BÖTTCHER MF, BJÖRKSTÉN B, SVERREMARK-EKSTRÖM E. (2009) Altered early infant gut microbiota in children developing allergy up to 5 years of age. *Clin Exp Allergy*, 39:518–526

Slavin J. (2013) Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients* 5:1417-35; PMID:23609775; <http://dx.doi.org/10.3390/nu5041417>

Sokol H, et al. (2008) *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. ;105:16731–16736. doi: 10.1073/pnas.0804812105

Sood A, et al. (2009) The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. ;7:1202–1209. doi: 10.1016/j.cgh.2009.07.016.

Soo I, et al. (2008) VSL#3 probiotic upregulates intestinal mucosal alkaline sphingomyelinase and reduces inflammation. *Can J Gastroenterol*. ;22:237–242.

Stefka AT, Feehley T, Tripathi P, Qiu J, McCoy K, Mazmanian SK, Tjota MY, Seo GY, Cao S, Theriault BR, Antonopoulos DA, Zhou L, Chang EB, Fu YX, Nagler CR. (2014) Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences*; p. 2–7.

Stefka, A. T. , Feehley T., Tripathi P., Qiu J., McCoy K., Mazmanian S. K., et al. (2014). Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111:13145–13150.

Stiemsma L.T., Turvey S.E. (2017) Asthma and the microbiome: Defining the critical window in early life. *Allergy Asthma Clin. Immunol*. ;13:3. doi: 10.1186/s13223-016-0173-6.

Stiles Michael E., Wilhelm H.Holzapfel (1997) Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy., *International Journal of Food Microbiology* Volume 36, Issue 1, 29 April 1997.

- Stokholm J., Blaser M.J., Thorsen J., Rasmussen M.A., Waage J., Vinding R.K., Schoos A.M., Kunøe A., Fink N.R., Chawes B.L., et al. (2018) Maturation of the gut microbiome and risk of asthma in childhood. *Nat. Commun.* ;9:141. doi: 10.1038/s41467-017-02573-2.
- Stout MJ, Conlon B, Landeau M, et al. (2013) Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *Am J Obstet Gynecol.* ;208:226 e1–7
- Strauman et al. (2012) Pediatric and adult eosinophilic esophagitis: Similarities and differences *Allergy* 2012;(67)4:477-490
- Sun J, Arias K, Alvarez D, Fattouh R, Walker T, Goncharova S, Kim B, Wasserman S, Reed J, Coyle AJ, Jordana M. (2007) Impact of CD40 ligand, B cells, and Mast cells in peanut-induced anaphylactic responses. *J Immunol.* ;179:6696–6703. doi: 10.4049/jimmunol.179.10.6696.
- Swaminathan K. (2010) Pesticides and human diabetes. A link worth exploring. *Diabet Med.* ;30:1268–71. doi: 10.1111/dme.12212
- Swidsinski A, Weber J, Loening-Baucke V, et al. (2005) Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol.*;43(7):3380–9.
- Takaishi H, et al. (2008) Imbalance in intestinal microflora constitution could be involved in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Int J Med Microbiol.* ;298:463–472. doi: 10.1016/j.ijmm.2007.07.016.
- Tang ML, Ponsonby AL, Orsini F, et al. (2015) Administration of a probiotic with peanut oral immunotherapy: a randomized trial. *J Allergy Clin Immunol.*; 135:737e744
- Tan Huizi and O’Toole Paul W. (2015). Impact of diet on the human intestinal microbiota. *Current Opinion in Food Science.* 2:71–77.
- Tazzini, D. (2015). Gut microbiota: definition, composition and the impact of diet. *Tuscany Diet.* Retrieved 3 June 2017, from <http://www.tuscany-diet.net/2015/12/31/gutmicrobiota-definition-composition/#top>
- Thompson-Chagoyan OC, Vieites JM, Maldonado J, Edwards C, Gil A. (2010) Changes in faecal microbiota of infants with cow’s milk protein allergy: a Spanish prospective case-control 6-month follow-up study. *Pediatr Allergy Immunol.*; 21:e394ee400

Toit Du G, Roberts G, Sayre PH, et al. (2015) Randomized trial of peanut consumption in infants at risk for peanut allergy. *N Engl J Med.*;372(9):803–13.

Topal E, Catal F, Soylu N, Ozcan OO, Celiksoy MH, Babayigit A, et al. (2016) Psychiatric disorders and symptoms severity in pre-school children with cow's milk allergy. *Allergol Immunopathol.* 44:445–9. 10.1016/j.aller.2016.03.001

Torrazza RM, Ukhanova M, Wang X, et al. (2013) Intestinal microbial ecology and environmental factors affecting necrotizing enterocolitis. *PloS One.* ;8:e83304.

Tsabouri S, Priftis KN, Chaliasos N, Siamopoulou A. (2013) Modulation of gut microbiota downregulates the development of food allergy in infancy. *Allergol Immunopathol.* ;42:69–77. doi: 10.1016/j.aller.2013.03.010.

Turnbaugh, P. J., M. Hamady, et al. (2009). "A core gut microbiome in obese and lean twins." *Nature* 457(7228): 480-484.

Turnbaugh, P. J., R. E. Ley (2007). "The human microbiome project." *Nature* 449(7164): 804-810

Tursi A, et al. (2010) Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol.*;105:2218–2227. doi: 10.1038/ajg.2010.218.

UPPERMAN JS, POTOKA D, GRISHIN A, HACKAM D, ZAMORA R, FORD HR. (2005) Mechanisms of nitric oxide-mediated intestinal barrier failure in necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 2005, 14:159–166

Vandenplas Y, Koletzko S, Isolauri E, et al. (2007) Guidelines for the diagnosis and management of cow's milk protein allergy in infants. *Arch Dis Childh.* ;92(10):902–8.

VanDussen KL, et al. (2013) Genetic variants synthesize to produce paneth cell phenotypes that define subtypes of Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2014;146:200–209. doi: 10.1053/j.gastro.09.048.

van Hoek, A. H., Mevius, D., Guerra, B., Mullany, P., Roberts, A. P., & Aarts, H. J. (2011). Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Frontiers in microbiology*, 2.

Van Nimwegen F.A., Penders J., Stobberingh E.E., Postma D.S., Koppelman G.H., Kerkhof M., Reijmerink N.E., Dompeling E., van den Brandt P.A., Ferreira I., et al. (2011)

Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy. *J. Allergy Clin. Immunol.* ;128:948–955.e1-3. doi: 10.1016/j.jaci.2011.07.027

Van Nood E, et al. (2013) Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med.* ;368:407–415. doi: 10.1056/NEJMoa1205037.

Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. (2013) Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med.*;368:407e415.

Van Santvoort HC, et al. (2008) Probiotics in surgery. *Surgery.* 143(1):1–7.

Varela E, et al. (2013) Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* ;38:151–161. doi: 10.1111/apt.12365

VAUGHAN EE, SCHUT F, HEILIG HG, ZOETENDAL EG, DE VOS WM, AKKERMANS AD. (2000) A molecular view of the intestinal ecosystem. *Curr Issues Intest Microbiol*, 1:1–12

Velmurugan G, Babu DDV, Ramasamy S. (2012) Prolonged intake of monocrotophos induces cardiac oxidative stress and myocardial damage. *Toxicol.* ;307:103–8. doi: 10.1016/j.tox.2012.11.022.

Verbeke, K. A., A. R. Boobis, et al. (2015). "Towards microbial fermentation metabolites as markers for health benefits of prebiotics." *Nutr Res Rev* 28(1): 42-66.

Victoria J. Martin, Wayne G. Shreffler, and Qian Yuan (2016) Presumed Allergic Proctocolitis Resolves with Probiotic Monotherapy: A Report of 4 Cases *Am J Case Rep.*; 17: 621–624.

Vincent, J. L. (2003). Nosocomial infections in adult intensive-care units. *The lancet*, 361(9374), 2068-2077

Virgin HW, Todd JA. (2011) Metagenomics and personalized medicine. *Cell.*;147: 44e56.

Virta LJ, Kautiainen H, Kolho KL. (2016) Symptoms suggestive of cow's milk allergy in infancy and pediatric inflammatory bowel disease. *Pediatr Allergy Immunol.* 27:361–7. 10.1111/pai.12551

Visconti A. et al. (2019) “Interplay between the human gut microbiome and host metabolism” *Nature Communications* volume 10, Article number: 4505.

- Vismaya, Rajini PS. (2014) Oral exposure to the organophosphorus insecticide, monocrotophos induces intestinal dysfunction in rats. *Food Chem Toxicol.* ;71:236–243. doi: 10.1016/j.fct.2014.05.030.
- Voreades, N., Kozil, A., & Weir, T. L. (2014). Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Frontiers in microbiology*, 5. Wade, W. G. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological research*, 69(1), 137-143.
- Vorobjova T., Raikkerus H., Kadaja L., Talja I., Uibo O., Heilman K., Uibo R. (2017) Circulating zonulin correlates with density of enteroviruses and tolerogenic dendritic cells in the small bowel mucosa of celiac disease Patients. *Dig. Dis. Sci.* ;62:358–371. doi: 10.1007/s10620-016-4403-z.
- Walker, A. W., J. Ince, et al. (2011). "Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota." *ISME J* 5(2): 220-230.
- Wang, F., J. L. Kaplan, et al. (2016). "Detecting Microbial Dysbiosis Associated with Pediatric Crohn Disease Despite the High Variability of the Gut Microbiota." *Cell Rep* 14(4): 945-955.
- Warner BB, Deych E, Zhou Y, et al. (2016) Gut bacteria dysbiosis and necrotising enterocolitis in very low birthweight infants: a prospective case–control study. *Lancet.* ;387(10031):1928–36.
- Willian M, Mabel A, Alberto B. (2006) Probióticos, Prebióticos y Simbióticos en pacientes críticos. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica.* 21:155–162
- Wills ES, Jonkers DM, Savelkoul PH, et al. (2014) Fecal microbial composition of ulcerative colitis and Crohn’s disease patients in remission and subsequent exacerbation. *PLoS One.*;9(3):e90981.
- Wood RA, Sicherer SH, Vickery BP, et al. (2013) The natural history of milk allergy in an observational cohort. *J Allergy Clin Immunol.* 131(3):805–812.
- Wopereis H, Sim K, Shaw A, Warner JO, Knol J, Kroll JS. (2018) Intestinal microbiota in infants at high risk for allergy: effects of prebiotics and role in eczema development. *J Allergy Clin Immunol.*141:1334e1342
- Wold AE. (1998) The hygiene hypothesis revised: Is the rising frequency of allergy due to changes in the intestinal flora? *Allergy.* 53(46 Suppl.):20–25.

- World Gastroenterology Organisation, (2008) practise guidelines : probiotics and prebiotics. Arab J Gastroenterol 10: 33-42
- Wu G.D., Chen J., Hoffmann C., Bittinger K., Chen Y.Y., Keilbaugh S.A., Bewtra M., Knights D., Walters W.A., Knight R., et al. (2011) Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. Science 334:105-8. doi:[10.1126/science.1208344](https://doi.org/10.1126/science.1208344)
- Xanthakos SA, Schwimmer JB, Melin-Aldana H, et al. (2005) Prevalence and outcome of allergic colitis in healthy infants with rectal bleeding: A prospective cohort study. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 41(1):16–22.
- Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, et al. (2012) Human gut microbiome viewed across age and geography. Nature.486:222e227.
- Youngster I, Russell GH, Pindar C, Ziv-Baran T, Sauk J, Hohmann EL. (2014) Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing Clostridium difficile infection. JAMA.312:1772e1778.
- Yuce O., Kalayci A.G., Comba A., Eren E., Caltepe G. (2016) Lactose and Fructose Intolerance in Turkish children with Chronic Abdominal Pain. Ind. Pediatr.53:394–397. doi: 10.1007/s13312-016-0860-x.
- Zeisel, S. H., M. H. Mar, et al. (2003). "Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods." J Nutr 133(5): 1302-1307.
- Zhou Y, Shan G, Sodergren E, Weinstock G, Walker WA, Gregory KE. (2015) Longitudinal analysis of the premature infant intestinal microbiome prior to necrotizing enterocolitis: a case–control study. PloS One. 10:e0118632
- A. Μπιλάλη, X. Μπαρτσόκας, Ε. Βελονάκης (2012) Necrotizing enterocolitis and premature infants 2012, Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 29 (3):290-310 ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 29(3):290-310
- Μεντής ΑΦΑ, Γύπας Φ και Μεντής ΑΦ. (2013). Ανθρώπινο μικροβίωμα του εντέρου: Ο ρόλος του στην υγεία και στη νόσο. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 30 (3):272-288.
- ΧΑΤΖΗΩΑΝΝΙΔΗΣ Κ. Νεκρωτική εντεροκολίτιδα: Νεότερες απόψεις. Παιδιατρική (2002), 65:232–240