

Ο ρόλος του ανθρώπινου μικροβιώματος του γαστρεντερικού συστήματος σε παιδιά με διάχυτη αναπτυξιακή διαταραχή

Ιουλία Πατσιαούρα, Γεωργία Γκιούλα

Εργαστήριο Μικροβιολογίας Σχολής Επιστημών Υγείας Τμήματος Ιατρικής
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης



Περίληψη

Ο άνθρωπος, όπως και άλλα είδη θηλαστικών, ζει σε μια συνεξελικτική σχέση με τεράστιες ποσότητες συμβιωτικών μικροοργανισμών που διαβιούν σε εξωτερικές και εσωτερικές επιφάνειες του σώματός του. Το σύνολο των μικροοργανισμών σε συγκεκριμένο φυσικό περιβάλλον καλείται μικροχλωρίδα, ενώ το σύνολο αυτών των μικροοργανισμών (ευκαρυωτικοί, αρχαία, βακτήρια και ιοί), η γενετική πληροφορία που φέρουν και το περιβάλλον στο οποίο αλληλεπιδρούν αποτελούν το ανθρώπινο μικροβίωμα. Κυρίαρχο ρόλο τόσο στην αποκάλυψη όσο και στην μελέτη του ανθρώπινου μικροβιώματος κατέχει ο προσδιορισμός της αλληλουχίας του γονιδίου 16S rRNA. Η διαταραχή αυτιστικού φάσματος (ASD) ή Διάχυτη Αναπτυξιακή Διαταραχή αποτελεί σειρά αναπτυξιακών νευροσυμπεριφορικών διαταραχών που χαρακτηρίζονται από μειωμένη κοινωνική αλληλεπίδραση και επικοινωνία, καθώς και περιορισμένη, επαναλαμβανόμενη και στερεότυπη συμπεριφορά. Αντιπροσωπευτικό νόσημα στην κατηγορία αυτή είναι ο αυτισμός. Πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα έδειξαν συσχέτιση μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος

και του αυτισμού είτε άμεσα είτε έμμεσα ως συνέπεια του διατροφικού προφίλ. Το ανθρώπινο μικροβίωμα του γαστρεντερικού συστήματος είναι σε θέση να «παρεμβαίνει» σε μια σειρά λειτουργιών του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ). Το έντερο μπορεί και λαμβάνει ρυθμιστικά σήματα από το ΚΝΣ και αντίστροφα. Έτσι, ο όρος άξονας έντερο-εγκέφαλος αναφέρεται σε μια ολοκληρωμένη έννοια της φυσιολογίας που ενσωματώνει τα νευρολογικά, ενδοκρινή, μεταβολικά και ανοσολογικά σήματα μεταξύ του ΚΝΣ και του γαστρεντερικού συστήματος. Επιρροή του μικροβιώματος στις λειτουργίες του ΚΝΣ εκδηλώνεται και στην υγεία και στη νόσο. Υπάρχει σημαντικός δεσμός μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος και της φυσιολογικής ωρίμανσης του ΚΝΣ υπό φυσιολογικές συνθήκες. Η βαθύτερη φύση της γαστρεντερικής δυσλειτουργίας στα παιδιά με αυτισμό, καθώς και η συσχέτισή της με την αιτιολογία και τα συμπτώματα του είδους αυτού των διαταραχών αποτελεί πεδίο για έρευνα. Η μελέτη του εντερικού ανθρώπινου μικροβιώματος συνιστά ένα «βακτηριακό ελπιδοφόρο δρόμο» με κατεύθυνση προς τη βελτίωση της ποιότητας ζωής των παιδιών με ASD.



Λέξεις κλειδιά

μικροβίωμα, αυτισμός, παιδιά, έντερο

Υπεύθυνος αλληλογραφίας

Ιουλία Πατσιαούρα

Αγίου Ιωάννου 26,

Καλαμαριά

τηλ. 6973447121

email: juliatk@windowslive.com

1. Εισαγωγή στο μικροβίωμα

Ο άνθρωπος, όπως και άλλα είδη θηλαστικών, ζει σε μια συνεξελικτική σχέση με τεράστιες ποσότητες συμβιωτικών μικροοργανισμών που διαβιούν σε εξωτερικές και εσωτερικές επιφάνειες του σώματός του. Το σύνολο των μικροοργανισμών σε συγκεκριμένο φυσικό περιβάλλον καλείται μικροχλωρίδα (microbiota ή microflora).^{1,2} Η ραγδαία εξέλιξη της μοριακής βιολογίας και η ανακάλυψη «μεταγενωμικών» τεχνικών ανεξάρτητων καλλιέργειας οδήγησε στην καλύτερη κατανόηση της πολύπλοκης μικροβιακής κοινότητας που «ζει επάνω και μέσα μας».³

Το ανθρώπινο σώμα αποικίζεται από μικρόβια τουλάχιστον 10 φορές περισσότερα από τον αριθμό των κυττάρων του (10-100 τρισεκατομμύρια μικροοργανισμοί), τα οποία ζυγίζουν περίπου 200 γραμμάρια.⁴ Τα μικρόβια των μικροχλωρίδων αποικίζουν σχεδόν κάθε επιφάνεια του ανθρώπινου σώματος η οποία εκτίθεται στο εξωτερικό περιβάλλον, όπως το δέρμα, η ουρογεννητική οδός, οι αναπνευστικοί ιστοί,⁵ η πλειοψηφία δε ανευρίσκεται στο γαστρεντερικό σωλήνα.⁶ Το σύνολο αυτών των μικροοργανισμών (ευκαρυωτικοί, αρχαία, βακτήρια και ιοί), η γενετική πληροφορία

που φέρουν και το περιβάλλον στο οποίο αλληλεπιδρούν αποτελεί το ανθρώπινο μικροβίωμα (microbiome), όρος που χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τους Lederberg και McCray το 2001.⁷

2. Χαρτογράφηση της μικροχλωρίδας του εντέρου

2.1. Από τις τεχνικές της καλλιέργειας στις τεχνολογίες DNA υβριδισμού και PCR

Στο παρελθόν έγιναν σημαντικές προσπάθειες για τη χαρτογράφηση της ανθρώπινης μικροχλωρίδας, και ιδιαίτερα αυτής του εντέρου. Η προσπάθεια απομόνωσης των βακτηρίων αρχικά έγινε με κλασικές μεθόδους καλλιέργειας σε θρεπτικά υποστρώματα. Σήμερα, είναι πλέον γνωστό ότι μόνο το 20-40% των μικροβίων του ανθρώπινου σώματος μπορούν να καλλιεργηθούν. Έτσι, το ενδιαφέρον στράφηκε προς άλλες μεθόδους, που χάρη στην πρόοδο που σημειώνει η βιοτεχνολογία, θα έδιναν φως σε τεχνικές μελέτης και απομόνωσης μικροοργανισμών που δεν ήταν δυνατόν να καλλιεργηθούν.⁸ Πρόκειται για τις νέες τεχνολογίες DNA υβριδισμού και PCR, οι οποίες συμπληρώνονται

με τη σειρά τους από την πρωτεωμική ανάλυση και τη μεταβολωμική, ώστε να διερευνηθούν πιο σύνθετα θέματα σχετικά με τις ανθρώπινες μικροχλωρίδες, όπως είναι οι μεταβολικές διεργασίες, οι αλληλεπιδράσεις μικροβίων ξενιστή καθώς και μικροβίων μεταξύ τους και παράγοντες που επιδρούν στη διατήρηση των μικροχλωρίδων.^{8,9}

Η ραγδαία ανάπτυξη τεχνικών μοριακής βιολογίας καθώς και μεθόδων προσδιορισμού της αλληλουχίας του DNA και η επεξεργασία του πλήθους των δεδομένων με προγράμματα βιοπληροφορικής έδωσε τη δυνατότητα περαιτέρω ανάλυσης των μικροβιακών κοινοτήτων απευθείας από το περιβάλλον τους, προσφέροντας χρήσιμες πληροφορίες για τη νουκλεοτιδική αλληλουχία των γονιδίων από το σύνολο του γονιδιώματος της μικροχλωρίδας και συμβάλλοντας στην αναγνώριση του λειτουργικού και βιολογικού ρόλου των μικροχλωρίδων τόσο στην υγεία όσο και στη νόσο.⁹

2.2. Προσδιορισμός αλληλουχίας του γονιδίου 16S rRNA

Δεν αποτελεί υπερβολή να πούμε ότι κυρίαρχο ρόλο τόσο στην αποκάλυψη όσο και στην μελέτη του ανθρώπινου μικροβιώματος κατέχει ο προσδιορισμός της αλληλουχίας του γονιδίου 16S rRNA, το οποίο είναι παρόν σε όλα τα βακτήρια και τα αρχαιοβακτήρια και το οποίο διαθέτει τόσο σταθερές, όσο και μεταβλητές περιοχές (V1-V9). Οι μεν πρώτες, οι σταθερές, χρησιμοποιούνται για το χαρακτηρισμό των βακτηρίων σε επίπεδο γένους, ενώ οι δεύτερες, οι μεταβλητές, για το χαρακτηρισμό τους σε επίπεδο είδους. Η συγκεκριμένη μοριακή ταυτοποίηση αποτελεί μια αποτελεσματική μέθοδο αναφοράς για την ταυτοποίηση μικροβίων και κυρίως αυτών που αναπτύσσονται αργά, είναι βιοχημικά αδρανή ή απαιτούν ειδικούς χειρισμούς προκειμένου να ταυτοποιηθούν.¹⁰ Πιο αναλυτικά, πρόκειται για μέρος της 30S μικρής υπομονάδας των προκαρυωτικών ριβοσωμάτων.¹¹ Επιπλέον, επειδή πρόκειται για ένα πολύ μικρό γονίδιο που αποτελείται μόλις από 1.542 ζεύγη βάσεων δύναται εύκολα να αντιγραφεί και να αλληλουχηθεί.¹²

2.3. Η εξέλιξη του εντερικού μικροβιώματος από τη γέννηση του ανθρώπου

Το δέρμα και κάθε βλεννογόνο επιφάνεια του ανθρώπινου σώματος αποικίζονται απευθείας μετά τη γέννηση με ένα ευρύ φάσμα από μικροοργανισμούς. Αυτές οι μικροβιακές κοινότητες εξελίσσονται σε ένα σύνθετο οικοσύστημα κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους ζωής, το οποίο ποικίλλει σε σημαντικό βαθμό μεταξύ των ατόμων και ανάλογα με την ηλικία, ενώ αλλαγές συμβαίνουν μέχρι να ολοκληρωθεί και το τρίτο έτος της ηλικίας.¹³ Τα προηγούμενα χρόνια επικρα-

τούσε η αντίληψη ότι το έντερο του εμβρύου είναι στείρο μικροβίων. Πρόσφατες ενδείξεις όμως για παρουσία βακτηριδίων σε μηκύνιο υγιών νεογέννητων, πιθανώς μαρτυρούν τη μεταφορά τους από τη μητέρα στο έμβρυο πριν τη γέννηση.^{14,15} Ωστόσο, ο αποικισμός του εντέρου στο νεογνό, όπως προαναφέρθηκε, ξεκινάει αμέσως μετά τον τοκετό και επηρεάζεται από το είδος του τοκετού, τη μεταφορά από τη μητέρα, τη διαίτα, περιβαλλοντικούς παράγοντες και χρήση αντιβιοτικών.⁵ Από το πρώτο έτος της ηλικίας, ένα ιδιοσυγκρασιακό μικροβίωμα εντέρου με υπογραφή όμοια με του ενήλικα σταθεροποιείται σε κάθε βρέφος.¹⁶

Ομάδες μελετών έχουν οδηγηθεί στο συμπέρασμα ότι το μικροβίωμα οδηγείται σε μακροπρόθεσμη συμβίωση παρά βραχυπρόθεσμο παρασιτισμό με τον ξενιστή-άνθρωπο. Μια σειρά λειτουργιών του με συντονισμένη δράση δικαιολογεί το χαρακτηρισμό του ως όργανο του ξενιστή και συστημικά συνεισφέρει στην αιτιολογία πειραματικών μοντέλων ασθενειών επιδρώντας σε απομακρυσμένα οργανικά συστήματα. Αυτό μπορεί να συμβεί με μεταφορά των κυττάρων του ανοσιακού συστήματος που διεγείρονται στον εντερικό σωλήνα προς περιφερικούς ιστούς, με συστηματική διάχυση μικροβιακών προϊόντων και μεταβολιτών που συμβιών ή με βακτηριακή μετατόπιση ως αποτέλεσμα διαταραχής της ακεραιότητας του φραγμού.¹⁷

Ένας τεράστιος αριθμός βακτηρίων διαβιεί στη στοματική κοιλότητα, με μεγάλη αύξηση να συναντάται στη διαδρομή με πορεία από το στόμαχο στο παχύ έντερο. Το εντερικό μικροβίωμα αποτελείται κυρίως από τα φύλα των Firmicutes και Bacteroidetes, ενώ μικρότεροι πληθυσμοί ανήκουν στα Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobiota και Fusobacteria.⁹ Τα τρία πρώτα είναι αυτά που, βάσει διεθνούς βιβλιογραφίας, κατά κανόνα εμπλέκονται στην παθογένεια του αυτισμού.¹⁸

Αξίζει σε αυτό το σημείο γίνει αναφορά στο μείζον θέμα της ψυχιατρικής των τελευταίων χρόνων, και συγκεκριμένα στο σχετικό ρόλο των γονιδίων και του περιβάλλοντος στη διαμόρφωση της ανθρώπινης συμπεριφοράς. Το ανθρώπινο μικροβίωμα λειτουργεί σαν διεπαφή μεταξύ των γονιδίων του ατόμου και του ιστορικού των περιβαλλοντικών εκθέσεων του. Έτσι, η εξερεύνηση του ανθρώπινου μικροβιώματος προσφέρει νέα οπτική στη νευροανάπτυξη και το φαινόμενο συμπεριφοράς του ατόμου, επιδρώντας σε σύνθετες διεργασίες όπως διαπροσωπικές και ενδοπροσωπικές παραλλαγές σε γνωστική λειτουργία, προσωπικότητα, διάθεση, ύπνο, διατροφική συμπεριφορά, ακόμη και μια σειρά νευροψυχιατρικών νόσων, που κυμαίνονται από απλή συναισθηματική διαταραχή έως και την πιο σύνθετη διαταραχή αυτιστικού φάσματος.³



3. Μικροβίωμα και διαταραχή αυτιστικού φάσματος

3.1. Διαταραχή αυτιστικού φάσματος

Η διαταραχή αυτιστικού φάσματος (ASD) ή Διάχυτη Αναπτυξιακή Διαταραχή (ΔΑΔ) αποτελεί σειρά αναπτυξιακών νευροσυμπεριφορικών διαταραχών που χαρακτηρίζονται από μειωμένη κοινωνική αλληλεπίδραση και επικοινωνία, καθώς και περιορισμένη, επαναλαμβανόμενη και στερεότυπη συμπεριφορά. Αντιπροσωπευτικό νόσημα στην κατηγορία αυτή είναι ο αυτισμός.¹⁷ Άτομα με ASD παρουσιάζουν συμπτώματα, όπως σπασμούς, προβλήματα ύπνου, μεταβολικές καταστάσεις και γαστρεντερικές διαταραχές, με γενικότερο αντίκτυπο στην υγεία τους, καθώς και αναπτυξιακές, κοινωνικές, μαθησιακές διαταραχές, αλλά και μειωμένη λεκτική ικανότητα. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα συμπτώματα που παρουσιάζουν από το γαστρεντερικό σύστημα (πόνος, δυσφορία, ναυτία, διάρροια, δυσκοιλιότητα, αναγωγές) οδηγούν συχνά σε προβλήματα συμπεριφοράς.¹⁹⁻²⁶

3.2. Συσχέτιση εντερικού μικροβιώματος και αυτισμού

Πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα έδειξαν συσχέτιση μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος και του αυτισμού είτε άμεσα είτε έμμεσα ως συνέπεια του διατροφικού προφίλ.²⁷ Η διαταραχή του εντερικού μικροβιώματος είναι δυνατόν να οδηγήσει σε υπεραποικισμό βακτηριακών στελεχών που παράγουν νευροτοξίνη, καθώς και σε αλλαγές του προφίλ των μεταβολιτών, που σύμφωνα με πειραματικές μελέτες συσχετίζεται με τον αυτισμό.²⁸⁻³⁰

Αξίζει να αναφερθεί ότι έχουν «ενοχοποιηθεί» τα τελευταία χρόνια συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί της εντερικής χλωρίδας για συμμετοχή στην παθογένεια αυτιστικής συμπεριφοράς σε παιδιά. Αξιοσημείωτες είναι οι διαφορές που εμφανίζονται σε διεθνή βιβλιογραφία στα βακτήρια του γαστρεντερικού σωλήνα μεταξύ παιδιών με αυτισμό και αντίστοιχων υγιών μαρτύρων.¹⁸ Ομάδες μελετών κατέδειξαν σαφή υπεροχή του φύλου *Bacteroidetes* στο μικροβίωμα του εντερικού σωλήνα παιδιών με αυτισμό σε σχέση με το *Firmicutes*, το οποίο φάνηκε να κυριαρχεί σε αυτό των υγιών μαρτύρων.^{17,31} Επιπλέον, το προφίλ των μεταβολιτών σε δείγματα ούρων και κοπράνων φάνηκε να διαφέρει μεταξύ ασθενών με αυτισμό και αντίστοιχων υγιών μαρτύρων, πιθανώς ως συνέπεια διαφορών στο μικροβίωμα.²⁸⁻³⁰

Ήδη από το 1998, ο Volte ισχυρίστηκε ότι το βακτήριο *Clostridium tetani* μπορούσε να προκαλέσει αυτισμό.³² Δύο μελέτες που ακολούθησαν στη συνέχεια κατέδειξαν έναν αρκετά μεγάλο αριθμό ειδών του γένους *Clostridium* σε δείγματα κοπράνων παιδιών με αυτισμό, με τον οποίο συσχετίστηκαν.^{33,34} Επιπρόσθετα,

παρατηρήθηκαν μεταβληθέντα επίπεδα διαφόρων συμβιωτικών του εντέρου, όπως αυτά των γενών *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Sutterella*, *Prevotella* και *Ruminococcus*, καθώς και της οικογένειας *Alcaligenaceae*.³⁵⁻³⁸ Τέλος, πρόσφατες μελέτες σε μοντέλα ποντικών με διαταραχές αυτιστικού φάσματος επιβεβαίωσαν τη σχέση των μικροβίων του εντερικού σωλήνα με αυτιστικές συμπεριφορές. Πιο συγκεκριμένα, προβιοτική θεραπεία με *B. Fragilis* σε ποντίκια φάνηκε να διορθώνει το μεταβολωμικό προφίλ αλλά και τις διαταραχές στη συμπεριφορά αυτιστικού τύπου και να βελτιώνει ελλείμματα στο φραγμό του γαστρεντερικού σωλήνα, σχετιζόμενα με ASD.^{39,40} Σύμφωνα λοιπόν με έρευνες και αναφορές της διεθνούς βιβλιογραφίας, το ανθρώπινο μικροβίωμα του γαστρεντερικού συστήματος είναι σε θέση να «παρεμβαίνει» σε μια σειρά λειτουργιών του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ).

4. Επικοινωνία εντερικού μικροβιώματος και ΚΝΣ

4.1. Ο άξονας έντερο-εγκέφαλος

Το έντερο μπορεί και λαμβάνει ρυθμιστικά σήματα από το ΚΝΣ και αντίστροφα. Έτσι, ο όρος άξονας έντερο-εγκέφαλος αναφέρεται σε μια ολοκληρωμένη έννοια της φυσιολογίας που ενσωματώνει τα νευρολογικά, ενδοκρινή, μεταβολικά και ανοσολογικά σήματα μεταξύ του ΚΝΣ και του γαστρεντερικού συστήματος.⁴¹ Το νευρολογικό μονοπάτι είναι λειτουργικό μέσω του Εντερικού Νευρικού Συστήματος (ΕΝΣ), μέρος του Αυτόνομου Νευρικού Συστήματος (ΑΝΣ) που ελέγχει τις λειτουργίες του γαστρεντερικού συστήματος όπως κινητικότητα και έκκριση από το βλεννογόνο, και των προσαγωγών νεύρων που μεταφέρουν αισθητικά σήματα από τα εσωτερικά όργανα στο ΚΝΣ.¹⁷ Όσο η ολοένα αυξανόμενη βιβλιογραφία κάνει γνωστή τη σημασία του εντερικού μικροβιώματος στις εντερικές λειτουργίες με μια σαφή αλληλεπίδρασή του με τους εντερικούς νευρώνες να διαφαίνεται, μια καινούρια έννοια του άξονα μικροβίωμα-έντερο-εγκέφαλος έχει αναδυθεί.⁴²

4.2. Επίδραση του ΚΝΣ στο μικροβίωμα

Η κλασική ΚΝΣ-έντερο-μικροβίωμα σηματοδότηση είναι λειτουργική μέσω της κεντρικής ρύθμισης του κορεσμού. Αλλαγές στο διαιτητικό προφίλ ως αποτέλεσμα της επίδρασης του ΚΝΣ στην πρόσληψη τροφής είναι δυνατόν να επηρεάσουν τη διαθεσιμότητα σε θρεπτικά συστατικά που απορροφώνται στο έντερο και συνεπώς τη σύσταση του μικροβιώματος στην περιοχή. Ειδικά πεπτίδια μεταφέρονται αιματογενώς στον εγκέφαλο μεταγευματικά στέλλοντάς του σήματα κορεσμού.⁴¹

Επιπρόσθετα, το ΚΝΣ επιδρά στο μικροβίωμα του εντέρου μέσω νευρικών και ενδοκρινικών μονοπατιών άμεσα και έμμεσα. Το ΑΝΣ και ο άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια που συνδέουν το ΚΝΣ με τα εσωτερικά όργανα δύνανται να μεταβάλλουν τη φυσιολογία του εντέρου, όπως κινητικότητα, έκκρηξη, διαπερατότητα του επιθηλίου, όπως και το ορμονικό προφίλ.¹

4.3. Επίδραση του μικροβιώματος σε λειτουργίες του ΚΝΣ

Το εντερικό μικροβίωμα παίζει σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη και ρύθμιση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια. Εντεροενδοκρινικά κύτταρα που διαχέονται ανάμεσα στο επιθήλιο του εντέρου δύνανται να εκκρίνουν νευροδιαβιβαστικά και άλλα σηματοδοτικά πεπτιδία ως απάντηση σε ερεθίσματα του εντερικού αυλού, δρώντας σαν μετατροπείς της οδού έντερο-ενδοκρινείς αδένες-ΚΝΣ.⁴² Επιπλέον, το αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο (VIP), μια πεπτιδική ορμόνη που συντίθεται στο έντερο και στον εγκέφαλο, φαίνεται να έχει ανοσορρυθμιστικό ρόλο.⁴³

Σημαντικό ρόλο στη σηματοδότηση μικροβίωμα-έντερο-ΚΝΣ παίζει και το μεταβολικό μονοπάτι του μικροβιώματος, καθώς μία από τις κύριες λειτουργίες του μικροβιώματος είναι να προάγει το μεταβολισμό του ξενιστή. Μεταβολίτες που προέρχονται από τη μικροχλωρίδα μπορούν να μιμούνται ή ακόμη και να συνθέτουν εξ ολοκλήρου μόρια σηματοδότησης στον ξενιστή. Έτσι, οι μικροοργανισμοί που συμβιώνουν στο έντερο είναι δυνατόν να παράγουν μια σειρά νευροδιαβιβαστών όπως σεροτονίνη, μελατονίνη, γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA), κατεχολαμίνες, ισταμίνη, ακετυλοχολίνη.⁴⁴⁻⁴⁶ Παραδείγματα μεταβολιτών που σχετίζονται με το μεταβολισμό των μικροβίων, καθώς και την αλληλεπίδρασή του με αυτόν του ξενιστή, αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία.⁴⁷

Τέλος, το ανοσολογικό μονοπάτι μοιάζει να αποτελεί ανεξάρτητο μηχανισμό στη σηματοδότηση του άξονα μικροβίωμα-έντερο-ΚΝΣ. Το ΚΝΣ δε στερείται κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Μάλιστα, αυτά φαίνεται να είναι παρόντα σε διάφορες περιοχές του ΚΝΣ, όπως χοριοειδές πλέγμα, μήνιγγες, εγκεφαλικό παρέγχυμα, εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Ανοσολογική διαταραχή των νευρικών ιστών μπορεί να προκαλέσει παρεκκλίνουσα αυτοανοσία του ΚΝΣ. Το μικροβίωμα, το οποίο παίζει ρόλο στη διαμόρφωση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή, προκαλεί αυτό-ενεργοποίηση των περιφερειακών ανοσοκυττάρων του

ΚΝΣ.^{48,49} Επιπλέον, η συστηματική κυκλοφορία ανοσολογικών παραγόντων παίζει ρόλο στην επικοινωνία του ανοσοποιητικού με το ΚΝΣ, κάτι που με τη σειρά του σχετίζεται με νευροψυχιατρικές διαταραχές όπως είναι η κατάθλιψη.¹⁷

Η απελευθέρωση μορίων σηματοδότησης, κυτταροκινών, αντιμικροβιακών πεπτιδίων στον εντερικό αυλό από νευρώνες, εντεροενδοκρινή κύτταρα, κύτταρα του ανοσιακού συστήματος και κύτταρα Paneth ύστερα από εντολή του ΚΝΣ είναι πιθανό να έχουν άμεσο αντίκτυπο στο μικροβίωμα του εντέρου.⁴² Οι Clarke και συν.⁵⁰ το 2006, ανακάλυψαν την QseC αισθητήρια κίνηση, ως βακτηριακό υποδοχέα της επινεφρίνης και νορεπινεφρίνης που παράγεται στον ξενιστή, κάτι που θα μπορούσε να εξηγήσει τη βιοχημική βάση της ενδοκρινούς σηματοδότησης στο μικροβίωμα.

5. Συμπεράσματα και προοπτικές

Η συσσώρευση πληροφοριών από έρευνες σε ζώα και ανθρώπους ενισχύει συνεχώς την έννοια του άξονα μικροβίωμα-έντερο-εγκέφαλος. Επιρροή του μικροβιώματος στις λειτουργίες του ΚΝΣ εκδηλώνεται και στην υγεία και στη νόσο. Υπάρχει σημαντικός δεσμός μεταξύ του εντερικού μικροβιώματος και της ωρίμανσης του ΚΝΣ υπό φυσιολογικές συνθήκες. Ερεθίσματα που προέρχονται από το μικροβίωμα του ατόμου επηρεάζουν τον προγεννητικό και μεταγεννητικό αναπτυξιακό προγραμματισμό του εγκεφάλου.^{51,52} Η βαθύτερη δε φύση της γαστρεντερικής δυσλειτουργίας στα παιδιά με αυτισμό, καθώς και η συσχέτισή της με την αιτιολογία και τα συμπτώματα του είδους αυτού των διαταραχών αποτελεί πεδίο για έρευνα, κάτι που προβλέπεται στο άμεσο μέλλον να δώσει φως στην κατανόηση των μηχανισμών και των εκδηλώσεων των γαστρεντερικών διαταραχών των παιδιών αυτών.⁵³ Η μελέτη του εντερικού ανθρώπινου μικροβιώματος συνιστά ένα «βακτηριακό ελπιδοφόρο δρόμο» όσον αφορά τον αυτισμό, ώστε να γίνει πραγματικότητα μια νέα θεραπευτική κατεύθυνση προς τη βελτίωση της ποιότητας ζωής των παιδιών με ASD.

Δήλωση Σύγκρουσης Συμφερόντων

Με την παρούσα επιστολή – δήλωση θα ήθελα να σας βεβαιώσω ότι δεν υπάρχει καμία σύγκρουση συμφερόντων από τους συγγραφείς.



Summary

The role of human gut microbiome in children with diffuse developmental disorder

Ioulia Patsiaoura, Georgia Gioula

Microbiology Department, School of Medicine, Faculty of Health Sciences Aristotle University of Thessaloniki

Human beings, like other mammals, live in a co-evolutionary association with huge quantities of commensal microorganisms resident on the exposed and internal surfaces of their bodies. The entirety of microorganisms in a particular habitat is termed microbiota or microflora, while all these microorganisms (eukarya, archaea, bacteria and viruses) with their collective genomes and the environment they live in and interact, constitute the term microbiome. 16S rRNA gene sequencing has a major role in studying and analyzing of the human microbiome. Autism spectrum disorders (ASD) are a set of complex neurodevelopmental disorders primarily characterized by difficulties in social interaction, verbal and non-verbal communication and repetitive or stereotypic behaviors. Autism represents the primary type of ASD. Emerging data have indicated a link between gut microbiome and ASD, either as direct causality or as indirect consequences of atypical patterns of feeding and nutrition. The human gut microbiome has the ability to "interfere" in a series of functions of Central Nervous System (CNS). The gut receives regulatory signals from the CNS and vice versa. The term gut-brain-axis thus describes an integrative physiology concept that incorporates neural, endocrine, metabolic and immunological signals between the CNS and the gastrointestinal system. The influence of microbiome on CNS functions is manifested in both normal and disease conditions. There is a crucial link between gut microbiome and CNS maturation under physiological state. The underlying nature of gastrointestinal dysfunction in ASD and its relationship to etiology and ASD symptoms are areas for further research. The study of human gut microbiome constitutes a "hopeful bacterial path" heading to amelioration of the quality of life for children with ASD.



Key words

microbiome, autism, children, gut

Βιβλιογραφία

- Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2012; 13:701-712.
- Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9:313-323.
- Gonzalez A, Stombaugh J, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Gordon JI, Knight R. The mind-body-microbial continuum. *Dialogues Clin Neurosci* 2011; 13:55-62.
- Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 1977; 31:107-133.
- Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev* 2010; 90:859-904.
- Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 1977; 31:107-133.
- Lederberg J, McCray AT. 'Ome Sweet' Omics- a genealogical treasury of words. *Scientist* 2001; 15:8.
- Fraher MH, O'Toole PW, Quigley EM. Techniques used to characterize the gut microbiota: A guide for the clinician. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9:312-322.
- Μεντής Α-ΦΑ, Γύπας Φ, Μεντής ΑΦ. Ανθρώπινο μικροβίωμα του εντέρου: Ο ρόλος του στην υγεία και στη νόσο. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* 2013; 30:272-288.
- Fierer N, Hamady M, Lauber CL, Knight R. The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105:17994-17999.
- Kitahara K, Yasutake Y, Miyazaki K. Mutational robustness of 16S ribosomal RNA, shown by experimental horizontal gene transfer in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109:19220-19225.
- Younger D. I-Cubed (Infection, Immunity, and Inflammation) and the Human Microbiome. *Neurol Clin* 2016; 34:863-874.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444:1022-1023.
- Jimenez E, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Olivares M, Xaus J et al. 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol* 2008; 159:187-193.
- Valles Y, Gosalbes MJ, de Vries LE, Abelian JJ, Francino MP, 2012. Metagenomics and development of the gut microbiota in infants. *Clin Microbiol* 2012; 18:21-26.
- Palmer C, Bik EM, Digiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLoS Biol* 2007; doi: 10.1371/journal.pbio.0050177.
- Wang Y, Kasper LH. The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain Behav Immun* 2014; 38:1-12.
- Xinyi C, Ping L, Ping J, Chunbo I. Characteristics of the gastrointestinal microbiome in children with autism spectrum disorder: a systematic review. *Shanghai Arch Psychiatry* 2013; 6:342-353.
- Horvath K, Perman JA. Autism and gastrointestinal symptoms. *Curr Gastroenterol Rep* 2002; 4:251-258.
- Filipek PA, Accardo PJ, Baranek GT, Cook EH Jr, Dawson G, Gordon B et al. The screening and diagnosis of autistic spectrum disorders. *J Autism Dev Disord* 1999; 29:439-484.
- Erickson CA, Stigler KA, Corkins MR, Posey DJ, Fitzgerald JF, McDougle CJ. Gastrointestinal factors in autistic disorder: a critical review. *J Autism Dev Disord* 2005; 35:713-727.
- Fombonne E, Cook EH. MMR and autistic enterocolitis: consistent epidemiological failure to find an association. *Mol Psychiatry* 2003; 8:133-134.
- DeStefano F. MMR vaccine and autism: a review of the evidence for a causal association. *Mol Psychiatry* 2002; doi: 10.1038/sj.mp.4001181.
- Galiatsatos P, Gologan A, Lamoureux E. Autistic enterocolitis: fact or fiction? *Can J Gastroenterol* 2009; 23:95-98.
- Buie T, Campbell DB, Fuchs GJ 3rd, Furuta GT, Levy J, Vandewater J et al. Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: a consensus report. *Pediatrics* 2010; doi: 10.1542/peds.2009-1878C.
- Buie T, Fuchs GJ 3rd, Furuta GT, Kooros K, Levy J, Lewis JD et al. Recommendations for evaluation and treatment of common gastrointestinal problems in children with ASDs. *Pediatrics* 2010; doi: 10.1542/peds.2009-1878D.
- Mulle JG, Sharp WG, Cubells JF. The gut microbiome: a new frontier in autism research. *Curr Psychiatry Rep* 2013; 15:337.
- Ming X, Stein TP, Barnes V, Rhodes N, Guo L. Metabolic perturbation in autism spectrum disorders: a metabolomics study. *J Proteome Res* 2012; 11:5856-5862.
- Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in children with autism spectrum disorder. *Dev Dis Sci* 2012; 57:2096-2102.
- Yap IK, Angley M, Vasselkov KA, Holmes E, Lindon JC, Nicholson JK. Urinary metabolic phenotyping differentiates children with autism from their unaffected siblings and age-matched controls. *J Proteome Res* 2010; 9:2996-3004.
- Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, Liu C, Henley KE, Wolcott RD et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe* 2010; 16:444-453.
- Bolte ER. Autism and *Clostridium tetani*. *Med Hypotheses* 1998; 51:133-144.
- Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen ML, Bolte E et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis* 2002; doi: 10.1086/341914.

34. Parracho HM, Bingham MO, Gibson GR, McCartney AL. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J Med Microbiol* 2005; 54:987-991.
35. Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, Quig D, Rubin RA. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism – comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol* 2011; 11:22.
36. Kang DW, Park JG, Ilhan ZE, Wallstrom G, Labaer J, Adams JB et al. Reduced incidence of prevotella and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PLoS One* 2013; doi: 10.1371/journal.pone.0068322.
37. Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Increased abundance of *Sutterella* spp. and *Ruminococcus torques* in feces of children with autism spectrum disorder. *Mol Autism* 2013; 4:42.
38. Williams BL, Hornig M, Parekh T, Lipkin WI. Application of novel PCR-based methods for detection, quantitation, and phylogenetic characterization of *Sutterella* species in intestinal biopsy samples from children with autism and gastrointestinal disturbances. *MBio* 2012; doi: 10.1128/mBio.00261-11.
39. de Theije CG, Wopereis H, Ramadan M, van Eijndthoven T, Lambert J, Knol J et al. Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun* 2014; 37:197-206.
40. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell* 2013; 155:1451-1463.
41. Romijn JA, Corssmit EP, Havekes LM, Pijl H. Gut-brain axis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008; 11:518-521.
42. Rhee SH, Pothoulakis C, Mayer EA. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nat Rev* 2009; 6:306-314.
43. Gonzalez-Rey E, Fernandez-Martin A, Chorny A, Martin J, Pozo D, Ganea D et al. Therapeutic effect of vasoactive intestinal peptide on experimental autoimmune encephalomyelitis: down-regulation of inflammatory and autoimmune responses. *Am J Pathol* 2006; 168:1179-1188.
44. Barrett E, Ross RP, O'Toole PW, Fitzgerald GF, Stanton C. Gamma-aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J Appl Microbiol* 2012; 113:411-417.
45. Forsythe P, Sudo N, Dinan T, Taylor VH, Bienenstock J. Mood and gut feelings. *Brain Behav Immun* 2010; 24:9-16.
46. Lyte M. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *Bioessays* 2011; 33:574-581.
47. Holmes E, Li JV, Athanasiou T, Ashrafi H, Nicholson JK. Understanding the role of gut microbiome–host metabolic signal disruption in health and disease. *Trends Microbiol* 2011; 19:349-359.
48. Berer K and Krishnamoorthy G. Commensal gut flora and brain autoimmunity: a love or hate affair? *Acta Neuropathol* 2012; 123:639-651.
49. Rook GA, Lowry CA, Raison CL. Lymphocytes in neuroprotection, cognition and emotion: is intolerance really the answer? *Brain Behav Immun* 2011; 25:591-601.
50. Clarke MB, Hughes DT, Zhu C, Boedeker EC, Sperandio V. The QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:10420-10425.
51. Al-Asmakh M, Anuar F, Zadjali F, Rafter J, Patterson S. Gut microbial communities modulating brain development and function. *Gut Microbes* 2012; 3:366-373.
52. Douglas-Escobar M, Elliott E, Neu J. Effect of intestinal microbial ecology on the developing brain. *JAMA Pediatr* 2013; 167:374-379.
53. Coury DL, Ashwood P, Fasano A, Fuchs G, Geraghty M, Kaul A et al. Gastrointestinal Conditions in Children With Autism Spectrum Disorder: Developing a Research Agenda. *Pediatrics* 2012; doi: 10.1542/peds.2012-0900N.