

Il microbiota e le malattie metaboliche. Una succinta review

Microbiota and metabolic disease. A brief review



R. Fornengo¹

riccardo_fornengo@yahoo.it

RIASSUNTO

In questa succinta review si vuole fare un update sintetico e snello delle principali conoscenze sul microbiota e i suoi influssi sull'organismo; pertanto non ha la pretesa di completezza ma deve essere inteso come uno stimolo ad affacciarsi ad un nuovo, complesso e in divenire campo di studio. Fino a pochi anni fa erano molto rari gli articoli sul microbiota, mentre negli ultimi anni il numero delle pubblicazioni sta aumentando esponenzialmente in rapporto ad un costante incremento dell'interesse su questo complesso sistema. La capacità di comprendere il microbiota e di poterlo modificare potrebbe rappresentare la nuova frontiera per la prevenzione e la terapia del diabete tipo 1, del diabete tipo 2 e dell'obesità.

Parole chiave Microbiota, Obesità, Diabete mellito tipo 1, Diabete mellito tipo 2.

SUMMARY

In this brief review, I want to make a synthetic update of the main knowledge regarding the microbiota and its influences on the organism; therefore, it has no claim to completeness, but must be understood as a stimulus to appear in a new, complex and evolving field of study. Until a few years ago were very rare scientific papers on the microbiota, while in recent years the number of publications is increasing exponentially in relation to a steady increase in interest of this complex system. The ability to understand and to be able to modify the microbiota may represent a new frontier for the prevention and treatment of type 1 diabetes, type 2 diabetes and obesity.

¹ SSD di Diabetologia, Ospedale di Chivasso, ASLTO4.

Key words Microbiota, Obesity, Type 2 diabetes mellitus, Type 1 diabetes mellitus.

INTRODUZIONE

L'entità biologica umana è una stabile simbiosi tra due uguali sistemi autonomi: un macro organismo (l'ospite umano) e i microrganismi simbiotici che si sono adattati a vivere negli organi umani sulla base di una relazione mutualmente benefica⁽¹⁾.

Il microbiota umano è composto da sei principali filati o tipi: Firmicuti, Batteriodi, proteobatteri, Actinobatteri, Fusobatteri, e i Verrucobatteri. I Firmicuti e i Batteriodi rappresentano circa il 90% dei batteri.

Il microbiota umano è un'entità molto complessa che, in condizioni fisiologiche, contribuisce allo sviluppo del sistema intestinale, del sistema immunitario, alla degradazione dei polisaccaridi non digeribili; gioca inoltre un ruolo importante nella distribuzione del grasso corporeo e nel controllo dell'omeostasi energetica⁽²⁾. Il microbiota viene influenzato dall'alimentazione, dallo stile di vita, dall'esercizio fisico, dall'uso degli antibiotici e dal tipo di antibiotici e dal background genetico⁽³⁾. Il microbiota interviene nella regolazione della produzione di acidi grassi a catena corta a loro volta coinvolti nella regolazione dell'assorbimento del cibo e della modulazione insulinica nella generazione di un basso grado di infiammazione. A questo proposito è stato infatti dimostrato che i topi germ free sono protetti dall'obesità e dalle alterazioni metaboliche indotte da diete ad alto tenore di grassi saturi, tipiche dei paesi occidentali⁽⁴⁾, mentre i topi germ free sottoposti a trapianto di microbiota da topi obesi incrementano il contenuto di grasso corporeo e l'insulino resistenza⁽⁵⁾. La metformina, somministrata ai topi, è associata all'incremento degli Akkermansia mucinophila, che hanno un impatto positivo sull'obesità e sul diabete, inducendo un calo

ponderale, un miglioramento del controllo glicemico e non ultimo una riduzione dell'infiammazione sistemica⁽⁶⁻⁸⁾, migliorando le barriere intestinali⁽⁹⁾.

L'intestino è il più grande organo del sistema immunitario ed è abitato da una immensa massa di microbi che vivono in simbiosi con l'ospite⁽¹⁰⁾. Il microbiota dell'intestino di un soggetto umano adulto è composto da circa 10^{13} - 10^{15} microorganismi⁽¹¹⁾. Le due principali popolazioni di microbi presenti nell'intestino adulto sono rappresentate dai Batterioidi (batteri Gram negativi) e dai Firmicutes (batteri Gram positivi). La colonizzazione dell'intestino inizia con il parto. La colonizzazione dei primi cinque anni di vita sembra che sia fondamentale per il corretto sviluppo del sistema immunitario⁽¹²⁾. Lo sbilanciamento del microbiota intestinale conduce alla disbiosi intestinale che sembra essere coinvolta nello sviluppo delle maggiori malattie immunomediate⁽¹³⁻¹⁴⁾. Una meta analisi del 2010 evidenzia vari fattori che possono influenzare il microbiota intestinale umano come l'età, gli stretti rapporti umani, la regione geografica dove si vive e il clima culturale. Le strette relazioni umane possono influenzare il microbiota fin dall'inizio della gravidanza, al momento del parto e durante la colonizzazione intestinale dei primi anni di vita⁽¹⁵⁾. Anche il microbiota del padre biologico può influire sul microbiota della madre e quindi influenzare il microbiota del figlio, così come le coppie stabili hanno un maggior scambio di microbiota rispetto alle coppie non stabili⁽¹⁶⁾. Anche il tipo di parto può determinare il microbiota del nascituro. I bambini nati con parto spontaneo assorbono parte del microbiota vaginale mentre i bambini nati tramite parto cesareo hanno un imprinting diverso con una minore diversificazione del microbiota. Inoltre i bambini nati prematuri hanno un microbiota caratterizzato da scarsa diversità, instabilità e maturazione ritardata⁽¹⁷⁻¹⁸⁾. Infine anche l'allattamento al seno influisce sullo sviluppo del microbiota in modo diverso dall'allattamento con latti maternizzati^(19,20).

I membri che compongono il microbiota tendono ad essere stabili per anni⁽²¹⁾, ma la relativa fluttuazione di ogni singolo membro del microbiota può essere estremamente dinamica⁽²²⁾. Il microbiota intestinale ha una grande resilienza e quindi tende a tornare alle condizioni di partenza dopo la fine dell'evento perturbante. Quindi per modulare il nostro microbiota dobbiamo pensare a degli interventi molto lunghi per evitare un rapido ritorno alla disbiosi di partenza. Sicuramente gli antibiotici possono indurre dei cambiamenti del microbiota anche a lungo termine⁽²³⁾. L'alimentazione è forse il principale fattore ambientale per la modulazione del microbiota. Una alimen-

tazione ricca di acidi grassi saturi induce uno sviluppo dei Bilophila (batteri collegati con lo sviluppo delle coliti), mentre un'alimentazione ricca di acidi grassi polinsaturi stimola la proliferazione di ceppi Lactobacillus e Akkermansia⁽²⁴⁾. Il consumo di proteine e l'attività fisica inducono la diversità microbale e alti livelli di Akkermansia, batteri correlati in modo negativo con l'obesità sia nei topi che negli umani⁽²⁵⁻²⁶⁾. Studi sul microbiota di gemelli omozigoti ed eterozigoti hanno confermato che la genetica ha una bassa influenza sulla sua composizione⁽²⁷⁾, mentre studi su animali da laboratorio e su umani confermano l'importanza del sesso dell'ospite sull'effetto dell'alimentazione sul microbiota⁽²⁸⁾.

Importanti substrati alimentari per il microbiota sono rappresentati dai carboidrati indigeriti o non completamente digeriti con gli amidi complessi e le fibre alimentari, ad esempio la cellulosa e l'emicellulosa, che comprende gli xilani, come la crusca, i glucomannani, e le pectine⁽²⁹⁾.

I lipidi, invece, non possono essere utilizzati dai batteri anaerobi intestinali, in quanto l'ossidazione degli acidi grassi a lunga catena richiede la presenza di ossigeno, che è scarso a livello intestinale. Quindi i cambiamenti che si osservano in risposta a diete ad alto tenore di grassi sono dovuti a cambiamenti nell'ambiente intestinale⁽³⁰⁾.

MICROBIOTA E DIABETE MELLITO

TIPO 2

I batteri Gram negativi, come i Batterioidi, contengono grandi quantità di LPS (lipopolisaccaridi), forti attivatori dei TLR4 (Toll like receptor 4). Questi recettori sono espressi in moltissime cellule somatiche e del Sistema Nervoso Centrale e sui macrofagi. Il legame tra gli LPS e i TLR4 comporta una risposta infiammatoria e l'espressione e la secrezione di citochine⁽³¹⁾. Questa interazione non è presente solo sui macrofagi ma su tutte le cellule dell'organismo. Nei soggetti obesi i livelli circolanti di LPS sono elevati e questo incremento è direttamente correlato all'incremento della permeabilità intestinale. L'aumento della permeabilità intestinale è dovuta ad una diminuzione delle tight junction intestinali. Gli LPS sono trasportati dai chilomicroni nella circolazione. L'aumento degli LPS è uno dei fattori che induce infiammazione, come già detto, e insulino resistenza, intolleranza al glucosio e obesità⁽³²⁻³³⁾. L'aumento di LPS circolanti induce inoltre l'aumento dell'espres-

sione della NO sintetasi inducibile⁽³⁴⁾. La conferma dell'importanza dell'attivazione dei TLR4 nella genesi dell'insulina resistenza deriva da studi su topi knock-out per il TLR4. I topi, nonostante una dieta ad alto tenore di grassi, sviluppavano una migliore tolleranza glicemica e insulino sensibilità con una bassa infiltrazione macrofagica del tessuto adiposo. La perdita della funzione di TLR4 protegge il tessuto muscolare dall'insulino resistenza indotta dagli acidi grassi⁽³⁵⁾. A livello ipotalamico il blocco della funzione dei TLR4 comporta un incremento dell'attività insulinica a livello periferico⁽³⁶⁾.

È interessante notare che l'attivazione dei TLR4 è coinvolta anche nelle dipendenze da sostanze come la cocaina⁽³⁷⁾.

Il microbiota può influire anche sull'assorbimento dei monosaccaridi. Alcuni ceppi batterici possono indurre una maggiore espressione degli SGLT-1 a livello ileale, mentre altri ceppi possono indurre l'incremento dell'espressione dei GLUT-2 a livello del digiuno e dell'ileo^(38,39).

MICROBIOTA E DIABETE MELLITO

TIPO 1

L'incidenza deIDiabete Mellito Tipo 1 (DMT1) sta crescendo in tutti paesi industrializzati dalla fine della seconda guerra mondiale. Anche altre condizioni morbose, come ad esempio i fenomeni allergici e la celiachia, hanno una parallela tendenza all'aumento dell'incidenza^(40,41) questo incremento non può essere spiegato con il solo aspetto genetico⁽⁴²⁾. Infatti i bambini migranti provenienti da popolazione a basso rischio di sviluppo di DMT1, assumono il rischio delle popolazione ad alto rischio⁽⁴³⁾. I virus sembrano sicuramente implicati nello sviluppo del DMT1 ma la relazione causa effetto tra infezione e malattia non è ancora stata correttamente stabilita. Come già detto l'uso di antibiotici causa cambiamenti anche a lungo termine, ma in alcuni casi potrebbe avere degli effetti benefici come si è visto un uno studio su ratti in cui l'uso di sulfametoxazolo e trimetoprimaveva un effetto protettivo sulle alterazioni del microbiota intestinale e sul conseguente sviluppo di DMT1, effetto che non compariva con l'uso di altri farmaci come ampicillina o la neomicina solfato⁽⁴⁴⁾. La dieta occidentale ad alto tenore di grassi, ad alto tenore di carboidrati e a basso tenore di fibre può indurre profondi cambiamenti funzionali a livello del microbiota intestinale⁽⁴⁵⁾. Questi dati suggeriscono che i bambini

non affetti da DMT1 potrebbero aver avuto un microbiota più bilanciato e stabile rispetto ai bambini che hanno sviluppato il DMT1⁽⁴⁶⁾.

Lo studio TEDDY ha osservato bambini con genotipo ad alto rischio in sei centri diversi (Finlandia, Svezia, Germania, Colorado, Stato di Washington, Georgia/Florida). Le conclusioni dimostrano che esiste una grande variabilità nel microbiota nei i sei centri. Il microbiota veniva influenzato da specifici fattori legati al paese e allo stile di vita. Dallo Studio è emerso che i bambini con alto rischio per lo sviluppo di DMT1 avevano degli specifici pattern di microbiota con delle similitudini intercontinentali e delle differenze intracontinentali. L'origine geografica era associata alla presenza e relativa abbondanza di ceppi micrbiotici. I bambini finlandesi e quelli del Colorado presentavano una scarsa differenziazione microbionica⁽⁴⁷⁾.

L'uso di probiotici nei primi 30 giorni di vita nei bambini studiati nel TEDDY study ha comportato una riduzione del rischio di sviluppo dell'autoimmunità verso le Beta cellule solo per coloro che avevano un genotipo DR3/4, mentre era assente per gli altri genotipi⁽⁴⁸⁾.

Un altro studio ha seguito per oltre 3 anni bambini finlandesi, russi e estoni con uguale rischio genetico per l'autoimmunità. Da questo studio emergeva che esistono delle sostanziali differenze tra la composizione e il funzionamento del microbiota dei bambini delle tre nazioni. I batteriodi erano dominanti nei bambini finnici ed estoni. Inoltre i bambini finlandesi e estoni avevano un alto tasso di LPS di derivazione batteriode. Tali LPS hanno la capacità di influire sullo sviluppo del sistema immunitario e la tolleranza alle endotossine⁽⁴⁹⁾.

MICROBIOTA E OBESITÀ

L'obesità è una condizione multifattoriale che deriva dall'interazione della genetica individuale con l'ambiente. La prevalenza dell'obesità nel mondo sta salendo in modo sempre più marcato dagli anni '70-'80 in avanti⁽⁵⁰⁾. Nel 2014 l'Organizzazione Mondiale della Sanità stimava che almeno 600 milioni fossero gli obesi nel mondo. Indubbiamente il cibo sempre più conveniente, facilmente reperibile, ad alta densità energetica e di scarsa qualità e l'eccesso di nutrizione sono tra le cause più importanti nell'aumento dell'obesità. Gli stessi fattori hanno anche una notevole importanza nell'alterazione del microbiota. Nel 2006 è uscito uno dei primi studi che ha confermato il rapporto tra microbiota, incremento ponderale e obesità, rapporto determinato dalla ca-

pacità del microbiota di rendere disponibile per l'ospite una maggiore quantità di energia assorbibile⁽⁵¹⁾. Tale studio dimostrava che il trapianto di microbiota da topi geneticamente obesi ob/ob in topi germ free, determinava incremento ponderale; l'incremento non si osservava quando veniva trapiantato microbiota di topi non obesi, a parità di assunzione di cibo. Il microbiota "obesogeno" possiede enzimi che possono indurre idrolisi e fermentazione di polisaccaridici altrimenti indigeribili che aumentano l'energia disponibile per l'ospite⁽⁵²⁾, soprattutto sotto forma di acidi grassi a catena corta.

Studi su gemelli omozigoti discordanti per il peso hanno permesso di determinare il collegamento tra microbiota, peso e alimentazione.

I soggetti con un fenotipo obeso e con una minore ricchezza batterica hanno una riduzione dei batteri produttori di butirrato, una minore produzione di metano e idrogeno, un incremento dello stress ossidativo⁽⁵³⁾, cui conseguiva una maggiore tendenza a sviluppare quadri infiammatori. La dieta occidentale (alto tenore di grassi saturi, bassa presenza di fibre, etc) induce una riduzione dei ceppi batterici dei Batteriodi e favorisce lo sviluppo dei ceppi dei Firmicuti e specialmente i Mollicute⁽⁵⁴⁾, che sono coinvolti nel metabolismo dei carboidrati. Il microbiota di soggetti obesi ha una prevalenza di Firmicuti, mentre il microbiota di soggetti magri ha una prevalenza di Batteriodi⁽⁵⁵⁾ con elevato rapporto Batteriodi/Firmicuti. L'importanza del microbiota nell'obesità è stato sottolineato anche da uno studio che metteva in luce come, già a sei mesi di vita, i differenti tipi di microbiota potevano essere predittivi del rischio di sviluppo di sovrappeso/obesità a 7 anni⁽⁵⁶⁾.

Uno dei ceppi batterici più importanti nella prevenzione dell'obesità è l'Akkermansia muciniphila, che appartiene al gruppo dei verrucomicrobia. Molti studi descrivono una correlazione inversa tra la concentrazione di Akkermansia muciniphila e modelli di obesità genetica e alimentare. La somministrazione di prebiotici, fibre alimentari come l'inulina e i suoi derivati, induce un netto incremento dell'Akkermansia in topi geneticamente obesi, con un miglioramento delle funzioni metaboliche e del metabolismo glucidico⁽⁵⁷⁾.

Il microbiota influenza la fermentazione dei carboidrati indigeribili in acidi grassi a catena corta (SCFA: acido butirrico, acido acetico, e propionico). L'acido butirrico e il propionico hanno un effetto antiobesogeno mentre l'acido acetico ha effetto opposto. Infatti i primi due sono principalmente prodotti dai Batteriodi mentre il terzo dai Firmicuti⁽⁵⁸⁾.

L'acido butirrico stimola il rilascio da parte delle

cellule L del GLP-1 e del GIP migliorando l'insulino sensibilità⁽⁵⁹⁾. L'acido propionico ha effetti positivi sull'inibizione del funzionamento dell'Acetil-CoA Sintetasi e quindi effetto sulla sintesi del colesterolo. L'acido acetico è invece substrato per la lipogenesi e per la sintesi di colesterolo⁽⁶⁰⁾.

Molti studi sono stati fatti per capire quale aspetto dell'alimentazione andasse ad influire di più sul microbiota, se la composizione della dieta o la quantità di calorie introdotte. La qualità ha una notevole rilevanza come si evince da studi sia sui topi⁽⁶¹⁾ che su uomini⁽⁶²⁾.

MICROBIOTA E CHIRURGIA

BARIATRICA

La chirurgia bariatrica, oltre al calo ponderale indotto dalla riduzione dell'introito alimentare, induce profondi cambiamenti nella fisiologia dell'intestino. Induce cambiamenti nella secrezione degli ormoni che inducono sazietà (GLP-1, Peptide YY, Oxintomodulina) e alterazione della velocità dello svuotamento gastrico. Alcuni tipi di intervento come la sleeve gastrectomy e il bypass gastrico Roux-en-y inducono alterazione del metabolismo degli acidi biliari con ulteriore effetto rimodulante sul microbiota intestinale⁽⁶³⁻⁶⁵⁾.

Il microbiota cambia profondamente dopo la chirurgia bariatrica. Infatti trapiantando il microbiota prelevato in un intestino di topi sottoposti a bypass gastrico Roux-en-y in topi germ free, si induceva un netto calo ponderale. Calo di peso che non compariva nei topi sottoposti a trapianto di microbiota preso da topi sottoposti a finti interventi di chirurgia bariatrica⁽⁶⁶⁾.

MICROBIOTA E TERAPIA

I prebiotici sono definiti come carboidrati fermentabili ma non digeribili^(67,68) che hanno la capacità di influenzare il microbiota intestinale al fine di indurre un beneficio salutare all'ospite. Tra i benefici dimostrati si evidenziano un miglioramento del segnale insulinico e la sua secrezione. Tra i prebiotici troviamo l'inulina, gli amidi resistenti e gli oligosaccaridi⁽⁶⁹⁾.

L'uso di prebiotici è in grado di modulare lo sviluppo anche in modo importante di molti ceppi batterici e in particolare dei batteriodi a discapito dei firmicuti, favorendo quindi un rapporto tra i ceppi batterici come quello che si ritrova nel microbiota dei soggetti magri⁽⁷⁰⁾.

Inoltre i prebiotici hanno dimostrato di migliorare molti parametri metabolici come livelli di glicemia a digiuno, la tolleranza glicidica, di ridurre i livelli plasmatici di trigliceridi, l'infiltrazione lipidica dei muscoli, la massa del tessuto adiposo, lo stress ossidativo e di migliorare la sensibilità leptinica.

I prebiotici modulano anche la secrezione del GLP-1 e del GLP-2, e incrementano la sensazione di sazietà, con effetti sull'appetito e sulla risposta glicidica dopo il pasto⁽⁷¹⁾.

I probiotici sono rappresentati da microrganismi viventi che possono migliorare la salute dell'ospite modificando il microbiota dopo essere stati ingeriti⁽⁷²⁾.

Esistono ancora pochi studi sull'uso dei probiotici nei soggetti affetti da diabete mellito, mentre sono molto più numerosi nella popolazione murina affetta da diabete.

Il *Lactobacillus casei* induce un decremento dei livelli glicemici nei topi affetti da diabete tipo 1 e previene l'insorgenza di diabete tipo 2 nei modelli murini^(73,74). La somministrazione di probiotici ha dimostrato di ridurre la distruzione delle Beta cellule, di ridurre il danno ossidativo del pancreas, di manifestare proprietà anti infiammatorie, di ridurre la traslocazione batterica tra l'intestino e l'ospite e di ridurre l'espressione delle citochine pro infiammatorie⁽⁷⁵⁾.

CONCLUSIONI

In conclusione le modificazioni del microbiota che riscontriamo nell'obesità, nella sindrome metabolica, nel diabete tipo 1 e 2 potrebbero rappresentare un potenziale target terapeutico: l'utilizzo di terapie ad azione prevalentemente locale, con limitati effetti sistemici, potrebbe diventare un nuovo modo di trattare le patologie metaboliche.

BIBLIOGRAFIA

- Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ et al. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science* 320(5883):1647-51, 2008.
- Cerf-Bensussan N, Gaboriau-Routhiau V. The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nat Rev Immunol* 10:735-44, 2010.
- Chen J, Li Y, Tian Y, Huang C, Li D, Zhong Q, Ma X. Interaction between microbes and host intestinal health: modulation by dietary nutrients and gut-brain-endocrine-immune axis. *Curr Protein Pept Sci* 16:592-603, 2015.
- Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JL. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:979-84, 2007.
- Turnbaugh PJ, Bäckhed F, Fulton L, Gordon JL. Diet-induced obesity

is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe* 3:213-23, 2008.

- Everard A, Lazarevic V, Derrien M, Girard M, Muccioli GG, Neyrinck AM, Possemiers S, Van Holle A, François P, de Vos WM, Delzenne NM, Schrenzel J, Cani PD. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. *Diabetes* 60:2775-86, 2011.

- Shin NR, Lee JC, Lee HY, Kim MS, Whon TW, Lee MS, Bae JW. An increased in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut* 63:727-35, 2014.

- Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, Guiot Y, Derrien M, Muccioli GG, Delzenne NM, de Vos WM, Cani PD. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:9066-71, 2013.

- Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, Guiot Y, Derrien M, Muccioli GG, Delzenne NM, de Vos WM, Cani PD. Cross talk between *akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:9066-71, 2013.

- Ley RE, Peterson DA, Gordon JL. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* 124:837-48, 2006. Doi: 10.106/j.cell2006.02.017.

- Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464:59-65, 2010.

- Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota. Masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol* 11:227-238, 2013.

- Dunne JL, Triplett EW, Gevers D, Xavier R, Insel R, Danska J, Atkinson MA. The intestinal microbiome in type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol* 177:30-37, 2014.

- West CE, Renz H, Jenmalm MC, Kozyrskyj AL, Allen KJ, Vuillermin P, Prescott SL; in-FLAME Microbiome Interest Group. The gut microbiota and inflammatory noncommunicable diseases: associations and potentials for gut microbiota therapies. *J Allergy Clin Immunol* 135:3-13, 2015.

- Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 486:222-227, 2012.

- Song SJ, Lauber C, Costello EK, Lozupone CA, Humphrey G, Berg-Lyons D, Caporaso JG, Knights D, Clemente JC, Nakielnny S, Gordon JL, Fierer N, Knight R. Cohabiting family members share microbiota with one other and with their dogs. *eLIFE* 2, e00458, 2013.

- Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol* 21:167-173, 2013.

- Penders J, Gerhold K, Stobberingh EE, Thijs C, Zimmermann K, Lau S, Hamelmann E. Establishment of the intestinal microbiota and its role for atopic dermatitis in early childhood. *J Allergy Clin Immunol* 132:601-607, 2013.

- Thum C, Cookson AL, Otter DE, McNabb WC, Hodgkinson AJ, Dyer J, Roy NC. Can nutritional modulation of maternal intestinal microbiota influence the development of the infant gastrointestinal tract? *J Nutr* 142:1921-8, 2012.

20. Roger LC, Costabile A, Holland DT, Hoyles L, McCartney AL Examination of faecal Bifidobacterium populations in breast- and formula-fed infants during the first 18 months of life. *Microbiology* 156:3329–41, 2010.
21. Faith JJ, Guruge JL, Charbonneau M, Subramanian S, Seedorf H, Godman AL, Clemente JC, Knight R, Heath AC, Leibel RL. The long term stability of the human gut microbiota. *Science* 341(6141):1237439, 2013.
22. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, Ling AV, Devlin AS, Varma Y, Fischbach MA, Biddinger SB, Dutton RJ, Turnbaugh PJ. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 505(7484):559–63, 2014.
23. Knip M, Siljander H. The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 12:154–67, 2016. Doi:10.1038/nrendo.2015.218.
24. Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Bäckhed F. Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling. *Cell Metab* 22(4):658–68, 2015.
25. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, Guiot Y, Derrien M, Muccioli GG, Delzenne NM, de Vos WM, Cani PD.. Cross-talk between Akkermansia Muciniphila and intestinal epithelium controls diet induced obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:9066–71, 2013.
26. Karlsson CL, Onnerfält J, Xu J, Molin G, Ahrné S, Thorngren-Jerneck K. The microbiota of the gut in preschool children with normal e and excessive body weight. *Obesity (Silver Spring)* 20:2257–61, 2012.
27. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A et al. A core gut microbiome in obese e lean twins. *Nature* 457(7228):480–4, 2009.
28. Bolnick DI, Snowberg LK, Hirsch PE, Lauber CL, Org E, Parks B, Lusi AJ, Knight R, Caporaso JG, Svanbäck R. Individual diet has sex-dependent effects on vertebrate gut microbiota. *Nat Commun* 5:4500, 2014.
29. Flint HJ, Scott KP, Duncan SH, Louis P, Forano E. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes* 3:289–306, 2012.
30. Islam KB, Fukiya S, Hagi M, Fujii N, Ishizuka S, Ooka T, Ogura Y, Hayashi T, Yokota A. Bile acid is a host factor that regulates the composition of the cecal microbiota in rats. *Gastroenterology* 141:1773–81, 2011.
31. Medzhitov R, Horng T. Transcriptional control of the inflammatory response. *Nat Rev Immunol* 9:692–703, 2009.
32. Prada PO, Zecchin HG, Gasparetti AL, Torsoni MA, Ueno M, Hirata AE, Corezola do Amaral ME, Höer NF, Boschero AC, Saad MJ. Western diet modulates insulin signaling, c-Jun N-terminal kinase activity, and insulin receptor substrate-1ser307 phosphorylation in tissue-specific fashion. *Endocrinology* 146:1576–87, 2005.
33. Kahn CR. Knockout mice challenge our concepts of glucose homeostasis and the pathogenesis of diabetes. *Exp Diabetes Res* 4:169–82, 2003.
34. Sugita H, Kaneki M, Tokunaga E, Sugita M, Koike C, Yasuhara S, Tompkins RG, Martyn JA Inducible nitric oxide synthase plays a role in LPS-induced hyperglycemia and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282:E386–94, 2002.
35. Huang YL, Morales-Rosado J, Ray J, Myers TG, Kho T, Lu M, Munford RS. Toll-like receptor agonists promote prolonged triglyceride storage in macrophages. *J Biol Chem* 289(5):3001–12, 2014.
36. Velloso LA, Folli F, Saad MJ. TLR4 at the cross-roads of nutrients, gut microbiota, and metabolic inflammation. *Endocr Rev* 36:245–71, 2015.
37. Northcutt AL, Hutchinson MR, Wang X, Baratta MV DAT isn't all that: cocaine reward and reinforcement requires Toll Like Receptor 4 signaling. *Mol Psychiatry* 20:1525–37, 2015.
38. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 291(5505):881–4, 2001.
39. Woting A, Pfeiffer N, Loh G, Klaus S, Blaut M. Clostridium ramosum promotes high-fat diet-induced obesity in gnotobiotic mouse models. *MBio* 5(5):e01530–14, 2014.
40. Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF.. The “Hygiene hypothesis” for autoimmune and allergic diseases: an update. *Clin. Exp. Immunol* 160:1–9, 2010.
41. Kondrashova A, Seiskari T, Ilonen J, Knip M, Hyöty H et al. The “Hygiene hypothesis” and the sharp gradient in the incidence of autoimmune and allergic diseases between Russian Karelia and Finland. *APMIS* 121:478–493, 2013.
42. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet* 383:69–82, 2014. Doi:10.1016/S140–6736(13)60591–7.
43. Ghazarian L, Diana J, Simoni Y, Beaudoin L, Lehuen A.. Prevention or acceleration of type 1 diabetes mellitus by viruses. *Cell Mol Life Sci* 70:239–55, 2012. doi: 10.1007/s00018–012–1042–1.
44. Hara N, Alkanani AK, Ir D, Robertson CE, Wagner BD, Frank DN, Zipris D. Prevention of virus induced type 1 diabetes with antibiotic therapy. *J Immunol* 189:3805–14, 2012.
45. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, Ling AV, Devlin AS, Varma Y, Fischbach MA, Biddinger SB, Dutton RJ, Turnbaugh PJ. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 505:559–63, 2014. Doi:10.1038/nature12820.
46. de Goffau MC, Fuentes S, van den Bogert B, Honkanen H, de Vos WM, Welling GW, Hyöty H, Harmsen HJ.. Aberrant gut microbiota composition at the onset of type 1 diabetes in young children. *Diabetologia* 57:1569–77, 2014.
47. Kempainen KM, Ardisson AN, Davis-Richardson AG, Fagen JR, Gano KA, León-Novelo LG, Vehik K, Casella G, Simell O, Ziegler AG, Rewers MJ, Lernmark Å, Hagopian W, She JX, Krischer JP, Akolkar B, Schatz DA, Atkinson MA, Triplett EW; TEDDY Study Group. Early childhood gut microbiomes show strong geographic differences among subjects at high risk for type 1 diabetes. *Diabetes Care* 38:329–32, 2015.
48. Uusitalo U, Liu X, Yang J, Aronsson CA, Hummel S, Butterworth M, Lernmark Å, Rewers M, Hagopian W, She JX, Simell O, Toppari J, Ziegler AG, Akolkar B, Krischer J, Norris JM, Virtanen SM; TEDDY Study Group. Association of early exposure of probiotics and islet autoimmunity in the TEDDY Study. *JAMA Pediatr* 170:20–8, 2016.
49. Vatanen T, Kostic AD, d'Hennezel E, Siljander H et al. Variation in microbiome LPS immunogenicity contributes to autoimmunity in humans. *Cell* 165(4):842–53, 2016.
50. Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes (Lond)* 32:1431–7, 2008.
51. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon

41. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444(7122):1027–31, 2006.
52. Sonnenburg JL, Xu J, Leip DD, Chen CH, Westover BP, Weatherford J, Buhler JD, Gordon JI. Glycan foraging in vivo by an intestine-adapted bacterial symbiont. *Science* 307(5717):1955–9, 2005.
53. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 500(7464):541–6, 2013.
54. DiBaise JK, Frank DN, Mathur R. Impact of the gut microbiota on the development of obesity: current concepts. *Am J Gastroenterol (suppl 1)* 11:22–27, 2012.
55. Scott KP, Antoine JM, Midtvedt T, van Hemert S. Manipulating the GM to maintain health and treat disease. *Microb Ecol Health Dis* 26:25877, 2015.
56. Kalliomäki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr* 87:534–8, 2008.
57. Everard A, Lazarevic V, Derrien M, Girard M et al. Responses of gut microbiotas and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. *Diabetes* 60:2775–86, 2011.
58. Louis P, Flint HJ. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *FEMS Microbiol Lett* 294:1–8, 2009.
59. Lin HV, Frassetto A, Kowalik EJ Jr, Nawrocki AR, Lu MM, Kosinski JR, Hubert JA, Szeto D, Yao X, Forrest G, Marsh DJ. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanism. *PLoS One* 7:e35240, 2012.
60. Chakraborti CK. New-found link between microbiota and obesity. *World J Gastrointest Pathophysiol* 6:110–9, 2015.
61. de Wit N, Derrien M, Bosch-Vermeulen H, Oosterink E, Keshtkar S, Duval C, de Vogel-van den Bosch J, Kleerebezem M, Müller M, van der Meer R. Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 303(5):G589–99, 2012.
62. Brinkworth GD, Noakes M, Clifton PM, Bird AR. 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. *Br J Nutr* 101:1493–502, 2009.
63. Miras AD, le Roux CW. Mechanisms underlying weight loss after bariatric surgery. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10:575–84, 2013.
64. Ryan KK, Tremaroli V, Clemmensen C, Kovatcheva-Datchary P, Myronovych A, Karns R, Wilson-Pérez HE, Sandoval DA, Kohli R, Bäckhed F, Seeley RJ. FXR is a molecular target for the effects of vertical sleeve gastrectomy. *Nature* 509(7499):183–8, 2014.
65. Tremaroli V, Karlsson F, Werling M, Ståhlman M, Kovatcheva-Datchary P, Olbers T, Fändriks L, le Roux CW, Nielsen J, Bäckhed F. Roux-en-y gastric bypass and vertical banded gastroplasty induce long-term changes on the human gut microbiome contributing to fat mass regulation. *Cell Metabol* 22:228–38, 2015.
66. Liou AP, Paziuk M, Luevano JM Jr, Machineni S, Turnbaugh PJ, Kaplan LM. Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. *Sci Transl Med* 5(178):178ra41, 2013.
67. Barends E. Vitamin D and prebiotics may benefit the intestinal microbacteria and improved glucose homeostasis in prediabetes and type 2 diabetes. *Endocr Pract* 19:497–510, 2013.
68. Delzenne NM, Kok N. Effects of fructans-type prebiotics on lipid metabolism. *Am J Clin Nutr* 73(2 Suppl):S456–S458, 2001.
69. Delzenne NM, Neyrinck AM, Bäckhed F, Cani PD. Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics. *Nat Rev Endocrinol* 7:639–46, 2011.
70. Everard A, Lazarevic V, Derrien M, Girard M, Muccioli GG, Neyrinck AM, Possemiers S, Van Holle A, François P, de Vos WM, Delzenne NM, Schrenzel J, Cani PD. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. *Diabetes* 60:2775–86, 2011.
71. Cani PD, Lecourt E, Dewulf EM, Sohet FM, Pachikian BD, Naslain D, De Backer F, Neyrinck AM, Delzenne NM. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *Am J Clin Nutr* 90:1236–43, 2009.
72. Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V, Akbarian-Moghari A. Effect of probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* on lipid profile in individuals with type 2 diabetes mellitus. *J Dairy Sci* 94:3288–94, 2011.
73. Matsuzaki T, Yamazaki R, Hashimoto S, Yokokura T. Antidiabetic effects of an oral administration of *Lactobacillus casei* in a non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) model using KK-Ay mice. *Endocr J* 44:357–65, 1997.
74. Matsuzaki T, Nagata Y, Kado S, Uchida K, Kato I, Hashimoto S, Yokokura T. Prevention of onset in an insulin-dependent diabetes mellitus model, NOD mice, by oral feeding of *Lactobacillus casei*. *APMIS* 105:643–9, 1997.
75. Yadav H, Jain S, Sinha PR. Oral administration of dahi containing probiotic *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* delayed the progression of streptozocin-induced diabetes in rats. *J Dairy Res* 75:189–95, 2008.