

MICROBIOTA INTESTINALE

- Quando si parla di microbiota, si parla non solo di batteri ma anche virus, funghi batteriofagi.
- 10^{14} cellule contro le 10^{13} cellule del corpo umano
- circa 1,5 kg (quanto il fegato)
- 3 milioni di geni circa contro i 30000 geni del genoma umano
- Contiene dalle 500 alle 1000 specie batteriche raggruppabili in tre Phyla principali: Bacteroidetes, Firmicutes e Actinobacteria
- Le specie batteriche che si possono raggruppare in livelli via via superiori fino ad arrivare a dei livelli generici di caratterizzazione del microbiota che sono i filum o fila. Tra le fila principali abbiamo Bacterioides, Firmicutes e gli Actinobacteria.

Abbiamo una diversa composizione di microbiota tra stomaco, intestino, duodeno.

- Funzioni ->

- Rimozione dei patogeni
- Produzione di fattori antimicrobici come batteriocine e acido lattico
- Digestione
- Produzione vitamine (gruppo B; K)
- Fermentazione dei residui dietetici non digeriti
- Metabolizzazione dei composti cancerogeni
- Rafforzamento della barriera intestinale
- Restringimento delle Tight Junction
- Controllo delle differenziazione e proliferazione degli Enterociti
- Sviluppo, fisiologia, patologia del sistema immunitario
- Induzione delle IgA
- Sviluppo, fisiologia, patologia del sistema nervoso centrale

Solo per una bassa % di specie di batteri sappiamo la funzione.

All'interno dell'intestino possono avere batteri simbiotici, cioè batteri buoni, e batteri potenzialmente patogeni. In genere questi due sono in equilibrio. Può esserci però un disequilibrio a favore dei batteri patogeni. Si sviluppa uno stato infiammatorio dell'intestino, che però non resta circoscritto all'intestino, ma si allarga a tutto il corpo causando diverse patologie come ->

Obesità, malattie metaboliche, morbo chron, malattie dell'immunitario, malattie del SNC.

se per qualche motivo c'è uno sbilanciamento (disbiosi) c'è un aumento dell'infiammazione a livello del GI c'è un aumento dei patogeni con proprietà pro-infiammatorie e questo comporta l'attivazione di una serie di cascate pro-infiammatorie. c'è l'attivazione delle T6 e anche il reclutamento di macrofagi ma soprattutto il rilascio di mediatori dell'infiammazione che si osservano anche nel sangue, citochine pro-infiammatorie e queste vanno ad intaccare la permeabilità della membrana intestinale che generalmente è molto stretta, ma nel momento in cui c'è uno stato infiammatorio a livello del GI quest'infiammazione rende la membrana intestinale molto più permeabile, infezione si diffonde. Abbiamo un aumento dell'infiammazione e determinando la predisposizione a diverse patologie che in primis interessano il GI ma anche altre patologie come ad esempio l'obesità, nelle patologie del SNC e immunitario.

È importante che il microbiota sia vario, perché ->

Qual è il vantaggio biologico della presenza di un microbioma particolarmente ricco a livello gastrointestinale?	
Vantaggi nutrizionali	<ul style="list-style-type: none"> • Il genoma microbico può contenere informazioni codificate non sviluppate dall'uomo durante l'evoluzione • Immagazzinamento energetico da polisaccaridi introdotti con la dieta • Regolazione della produzione di vitamine (B e K) • Produzione di acidi grassi a corta catena (SCFA)
Vantaggi nei meccanismi di difesa	<ul style="list-style-type: none"> • Resistenza alla colonizzazione di potenziali patogeni • Degradazioni di xeno-biotici • Stimoli positivi sulle cellule dell'immunità innata e acquisita

Lo stesso genere batterico può avere effetto sia buono che dannoso, questo perché all'interno dello stesso genere abbiamo specie diverse, che possono avere delle attività diverse. Es genere bacteriodes, che hanno specie che producono vitamine ed altre specie dannose.

Quello che influenza la ricchezza del microbiota e la prevalenza di specie buone o dannosi ->

Dieta -> una dieta grassa favorisce la presenza di batteri opportunistici e potenzialmente dannosi. Una dieta bilanciata invece favorisce una flora batterica sana e prevalenza di batteri buoni

Farmaci -> abuso di antibiotici uccide la flora batterica. Prebiotici e probiotici aiutano la flora intestinale

Esercizio -> favorisce microbiota sano. Vita sedentaria favorisce batteri dannosi.

Il microbiota Ha tantissime funzioni, tra cui influenzare il ritmo circadiano e la preferenza del cibo ->

I batteri intestinali possono influenzare il nostro controllo nell'assunzione di cibo, il senso di fame ma anche il nostro ritmo sonno veglia.

Creare un buon microbiota entro i 3 anni è importante per il sistema immunitario del bambino

Il microbiota cambia durante la vita, soprattutto cambia con la vecchiaia, durante età adulta e adolescenza rimane costante.

Il microbiota è influenzato da tantissimi fattori, tra cui il tipo di parto, tipo di allattamento. Alla nascita, il neonato ha un microbiota minimo, ha pochi batteri che sono passati tramite placenta. I primi mesi di vita sono importantissimi per lo sviluppo del microbiota -> lo condiziona il parto, allattamento, alimentazione, ambiente, provenienza geografica. allattamento al seno è fattore positivo.

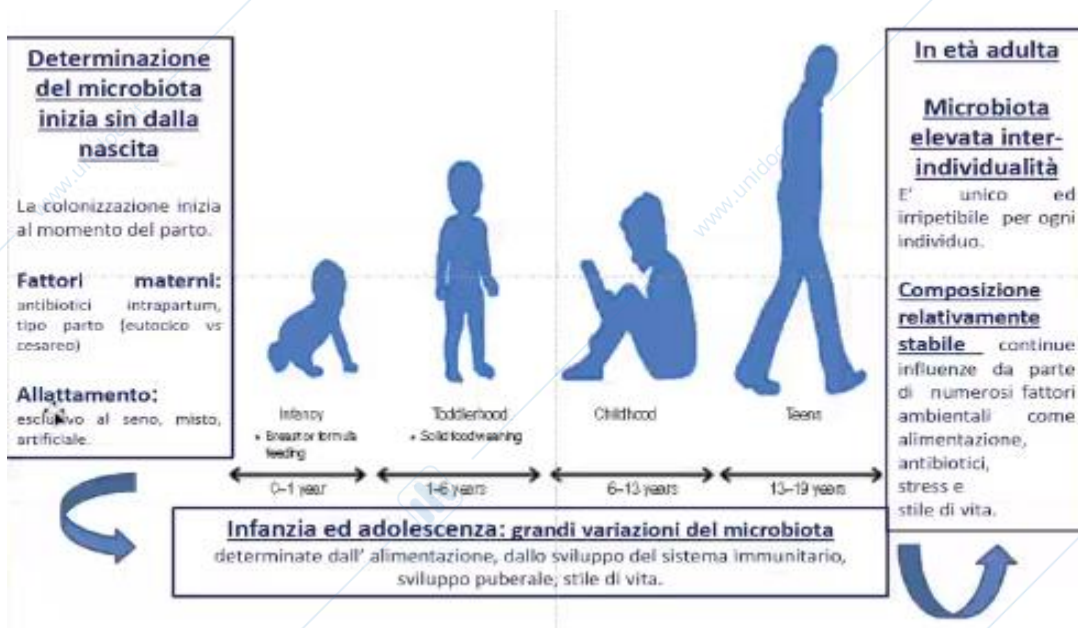
Dieta -> si è misurato il microbiota intestinale di bambini europei e di quelli africani. Quelli africani avevano tanti bacteriodes, mentre nei bimbi europei erano praticamente assenti. I bimbi europei avevano tanti firmicutes, i bimbi africani ne avevano pochi. Da questo capiamo che alimentazione e ambiente influenzano il microbiota. Questo fattore può essere interpretato come un'evoluzione del microbiota oppure come un fattore negativo, perché i bimbi dei paesi industrializzati perdono batteri importanti.

- **Teoria dell'igiene ->**

chiamata Hygiene Hypothesis, pone proprio la differenza su alcune condizioni di vita su popolazioni diverse cioè quelle più industrializzate piuttosto che quelle in via di sviluppo. In quelle più industrializzate viene implicata una maggiore quantità di antibiotici, questo non fa bene perché vanno a distruggere alcuni fattori protettivi, causa anche un aumento di patologie legate ad una serie di allergie come asma o altre patologie della pelle.

Altri fattori che influenzano la composizione del microbiota sono farmaci, fumo, stress, viaggi, esercizio fisico.

- Sviluppo del microbiota ->



L'intestino del neonato alla nascita ha pochissimi batteri, dopo 48 ore abbiamo già 10 alla 9 batteri.

Corretto sviluppo del microbiota garantisce corretto sviluppo del sistema immunitario ->

La colonizzazione intestinale nello sviluppo della tolleranza immunologica

- La colonizzazione intestinale precoce è importante per lo sviluppo ed il mantenimento della **TOLLERANZA IMMUNOLOGICA**, che a sua volta è necessaria per la prevenzione di patologie immuno-mediate.

- Il mancato sviluppo della tolleranza immunologica nei primi mesi di vita e/o la perdita della tolleranza immunologica nelle epoche successive predispongono alla comparsa di **malattie allergiche o autoimmuni**.



- **SPECIFICI BATTERI** possono contribuire in modo significativo allo sviluppo della tolleranza immunologica:

- **Bacteroides fragilis e Clostridia:** favoriscono la proliferazione di **linfociti T regolatori** nella lamina propria della mucosa intestinale.

Un non corretto sviluppo del microbiota nei primi anni di vita può portare a rischio di sviluppare diverse patologie ->

- colonizzazione abbondante con Escherichia coli è associato a sviluppo di eczema.
- i bimbi allergici hanno meno bifidobatteri e più stafilococco aureus.
- Bambini obesi hanno microbiota alterato, con più firmicutes e alterato rapporto tra firmicutes e bacteroidetes.
- Anche l'asma, nei primi anni di vita, è associata a alterata presenza di batteri, in particolare hanno abbondanza di escherichia e minori bifidobatteri
- allergie alimentari -> alcune allergie sono associate a maggiore abbondanza di clostridium e bassi bacteroidetes

Nei bambini, vediamo che se integriamo il microbiota con probiotici e prebiotici, possiamo ristabilire l'equilibrio del microbiota. I prebiotici nei bambini hanno anche fattori protettivi da allergie, riequilibrando impediamo il potenziale sviluppo di allergie


Nello sviluppo del microbiota anche nella vita adulta e nell'anziano i primi anni di vita c'è una predominanza di Actinobateri e c'è una buona percentuale di Firmicutes che diventa la parte più importante nella vita adulta e nell'invecchiamento. In alcuni studi anche alcuni alimenti che introduciamo con la dieta si è visto che vanno ad arricchire certi batteri e quindi ad arricchire il microbiota in certi batteri piuttosto che altri. Ad esempio, i Bifidobacteria crescono bene quando c'è un ambiente ricco di fibra e quindi anche in questo caso c'è una differenza tra vegetariani e carnivori o anche da popoli.

- **Studiare il microbiota ->**

Germ Free Mice -> sono animali privi del microbiota intestinale e quindi sono animali da laboratorio fatti crescere in condizioni sterili e vengono fatti crescere in queste gabbie sterili. Il vantaggio è che posso andare a ricostituire il microbiota intestinale come voglio io e quindi posso vedere il meccanismo causa-effetto di una patologia e quindi vado a vedere cosa succede al comportamento o ad altre patologie dell'animale a seguito della ricostituzione del microbiota intestinale. Si può anche andare a colonizzare un animale germ free con microbiota specifico che penso sia coinvolto nella patologia.

Oppure posso fare un trapianto fecale al mio animale germ free da un animale malato, per vedere se anche il mio topo sterile si ammala. Questo è vero -> un esempio è per l'obesità, se faccio trapianto fecale da topo obeso a topo germ free normo peso, vediamo che anche il secondo topo tende a diventare obeso.

Se si faceva trapianti fecale da soggetto depresso a soggetto controllo germ-free, il soggetto controllo sviluppava comportamento depressive-like

Sono quindi animali che necessitano di vivere in particolari condizioni sterili e permettono di colonizzare il loro microbiota con ceppi specifici e quindi se voglio studiare l'effetto di taxa batterici allora ancorò a somministrare o inoculando dei ceppi specifici o direttamente il microbiota intestinale di altri modelli  Costituire mediante un sequenziamento della 16S e avere un'idea di andare a sequenziare tutto il gene e quindi so costituire tutta la composizione del microbiota intestinale nel particolare soggetto. Si usa un sequenziatore che serve per sequenziare base per base il 16S. Si parte da diversi campioni di feci e si toglie il DNA e non si fa distinzione tra il DNA genomico e batterico ma poi vengono usati primer che conoscono solo quello batterico e quindi lo amplifico e poi lo carico sulla macchina che mi darà delle sequenze che verranno usate per formare l'albero e quindi saprò quali specie batteriche sono presenti in quel determinato campione di feci. Permette di identificare quali sono i batteri che sono presenti nelle feci e quindi i batteri presenti nel microbiota intestinale e poi uso anche dei software mi permette anche di ipotizzare le funzioni biologiche che sono principalmente abbondanti nel paziente rispetto al soggetto di

controllo e quindi anche sulla base dell'abbondanza di determinati batteri permette anche di effettuare un'analisi che mi permette di ipotizzare la funzionalità e i processi biologici attivati da quei batteri

Come si diceva prima ci sono alcune patologie che interessano il microbiota intestinale perché sono anche state le prime patologie che hanno visto delle applicazioni nuove in questo ambito di ricerca.

- Studiare il microbiota umano ->

Oggi, il microbiota viene studiato tramite sequenziamento del DNA dei batteri. Viene raccolto un campione di feci, viene estratto il DNA batterico, viene usata la tecnica di metagenomica. Questo permette di sequenziare il gene 16S del batterio -> ottengo la sequenza completa per avere una classificazione tassonomica dei batteri presenti nel microbiota. Da questa analisi possiamo ricostruire la composizione del microbiota nei diversi soggetti.

- Variazioni microbiota e patologia ->

Coinvolto in patologie immuni, del SNC, del GI.

Alterazioni del microbiota fanno sì che ci sia un'abbondanza di batteri cattivi e potenzialmente patogeni che danno infiammazione prima a livello del GI, poi in tutto il corpo. Abbiamo uno stato pro-infiammatorio esteso all'intero organismo.

Fattori che possono essere lo stile di vita, la dieta, l'aggiunta di probiotici o prebiotici e anche l'aggiunta di sostanze antinfiammatorie, così come l'esercizio fisico o anche altri fattori vanno a bilanciare il microbiota intestinale protettivo e questo a sua volta determina una ridotta permeabilità della membrana, un ridotto stato infiammatorio, una ridotta sensibilità all'insulina e anche una ridotta vulnerabilità in tutta quella serie di patologie che possono essere cardiovascolari, metaboliche e in generale quello che è il benessere del soggetto.

Una dieta invece ricca di grassi e zuccheri piuttosto che la vita sedentaria o l'utilizzo frequente di antibiotici va a predisporre un'altra situazione a favore per i batteri opportunisti e pro-infiammatori causando un'aumentata permeabilità della membrana e infiammazione e una predisposizione per tutte le varie patologie ->

- Obesità
- Cancro, topi germ free sono meno a rischio di sviluppare tumori
- Asma
- Allergie
- Patologie polmonari croniche

- Batteri e SNC ->

Il microbiota può influenzare il cervello tramite due vie ->

- Alcuni batteri sono fonte di sintesi di neurotrasmettitori, producono anche metaboliti (acidi grassi a corta catena)
- Tramite nervo vago

Si è scoperto che il microbiota influenza il SNC grazie ai topi germ free, che avevano alterazioni nella neurogenesi, nella sinapsi, nella sintesi di neurotrasmettitori. Questi animali presentavano anche deficit cognitivi e socialità alterata.

C'era anche comorbidità tra microbiota e patologie psichiatriche. Ad esempio, chi ha la sindrome del colon irritabile, ha il 50% in più di possibilità di sviluppare malattie psichiatriche. Anche gli antibiotici hanno effetti collaterali legati al SNC, perché gli antibiotici hanno influenza sul microbiota, che a sua volta ha comorbidità con le patologie psichiatriche -> antibiotici possono causare ansia, sintomi depressivi, psicosi. Esolamzapina, farmaco antipsicotico, induce sindrome metabolica -> Si è visto che quando è associata all'antibiotico, causano alterazioni al microbiota e questo causa variazione della risposta del farmaco.

C'è anche associazione tra microbiota e ansia\depressione -> si è analizzato topi controllo con topi depressi. Hanno poi fatto confronto tra microbiota tra pazienti depressi e pazienti controllo -> i pazienti depressi hanno un profilo microbiotico specifico e diverso dai pazienti controllo.

- **Microbiota e autismo ->**

Si è visto che i bambini autistici hanno microbiota diverso dai bambini controllo. Abbiamo profilo del microbiota specifico. Alcuni sintomi gastrointestinali compaiono prima dei sintomi dell'autismo. Questo è un ambito in cui si stanno facendo ancora ricerche. Si è comunque vista una correlazione tra autismo e probiotici -> i bambini che li prendono hanno effetto benefico, rendono più lievi alcune caratteristiche dello spettro autistico.

- **Microbiota e Alzheimer ->**

Questa malattia è caratterizzata da placche di beta amiloide. La formazione delle placche causa morte cellulare e neurodegenerazione. Si è osservato che questi pazienti presentano stato infiammatorio accentuato -> hanno proteine C reattiva, citochine pro-infiammatorie molto alte, è infiammazione generale ma accentuata soprattutto nel SNC.

Questo ha portato a riformulare la patogenesi dell'Alzheimer -> prima si pensava che i depositi di beta amiloide andassero ad attivare il complemento e le cellule della microglia, causando stato infiammatorio.

In realtà, oggi si pensa che come prima cosa abbiamo lo stato infiammatorio generalizzato, e questa infiammazione continua sia la causa della formazione delle placche amiloidi. Si pensa che una delle possibili cause che generano questa infiammazione continua sia correlata all'intestino.

È a questo livello che si pensa che ci possa essere associazione tra microbiota e Alzheimer. Hanno incubato dei batteri del nostro microbiota con la beta amiloide, si è osservato che abbiamo riduzione della crescita dei batteri, indicando che la beta amiloide ha proprietà antimicrobiche, riduce crescita batterica. Da qui si pensa che l'attacco che causa infiammazione sia batterica, quindi la beta amiloide sarebbe prodotta dal nostro corpo per proteggerci da questo attacco batterico, ma poi se si accumula in placche causa neurodegenerazione.

È stato fatto uno studio per verificare la presenza di batteri nel cervello Alzheimer.

È stato fatto anche studio confrontando le feci di soggetti Alzheimer e soggetti controllo -> si è verificata la presenza di DNA batterico. Nei soggetti controllo abbiamo presenza di DNA batterico, ma nei soggetti Alzheimer abbiamo una % di DNA batterico molto più alta. Questo supporta l'idea che l'infezione intestinale da microbiota possa diffondersi in tutto il corpo, fino al SNC. Nei soggetti sani, a livello del SNC, abbiamo attivazione della microglia, produzione di A beta che attacca la componente estranea. A seguito di

questa risposta infiammatoria, la componente estranea viene eliminata e abbiamo eliminazione della beta amiloide. Questo non succede nel cervello in un cervello potenzialmente Alzheimer. Possiamo avere il riconoscimento dell'agente estraneo, si sintetizza A beta, ma abbiamo problemi nell'eliminazione di A beta. A beta si deposita, crea placche, stato infiammatorio persistente e neurodegenerazione.

Hanno fatto uno studio su topi germ free geneticamente predisposto all'Alzheimer in cui trasferivano il microbiota. Si è visto che i topi germ free malati avevano meno accumuli di beta amiloide rispetto ai topi malati "normali". È stato poi preso il microbiota di questi ultimi ed è stato trasferito nei topi germ free -> con il trasferimento del microbiota ho trasferito anche la malattia -> dopo il trapianto avevano aumento di beta amiloide.

- **Nuove terapie ->**

In patologie come Alzheimer e depressione sembra esserci correlazione con il microbiota, quindi si pensa a delle terapie integrative. Questi non vanno a sostituire i farmaci, ma possono dare beneficio se integrati. Sono i probiotici, i prebiotici e trapianti fecale.

PROBIOTICI ("organismi vivi che, somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell'ospite"). Si sono dimostrati efficaci nel migliorare l'umore di pazienti depressi e in condizioni di stress.

PREBIOTICI ("ogni sostanza che, presente nel cibo, non viene assorbita dall'organismo ma è utilizzata dalla flora intestinale")

TRAPIANTO DI MICROBIOTA ->

Viene usato per curare la malattia da Clostridium . Avviene trapianto fecale tra soggetto sano e soggetto malato. Questo permette di ricostruire parzialmente il microbiota del soggetto malato, questo permette di far sparire alcuni sintomi.

Si sta pensando di applicare il trapianto anche ad altre patologie, tra cui Alzheimer.

Si pensa che modificando il microbiota potremo modificare e migliorare il nostro stato di salute fisico e mentale.

L'idea di base è abbassare lo stato infiammatorio causato da disbiosi del microbiota che causa infiammazione generale. Questo potrebbe migliorare la salute generale.