

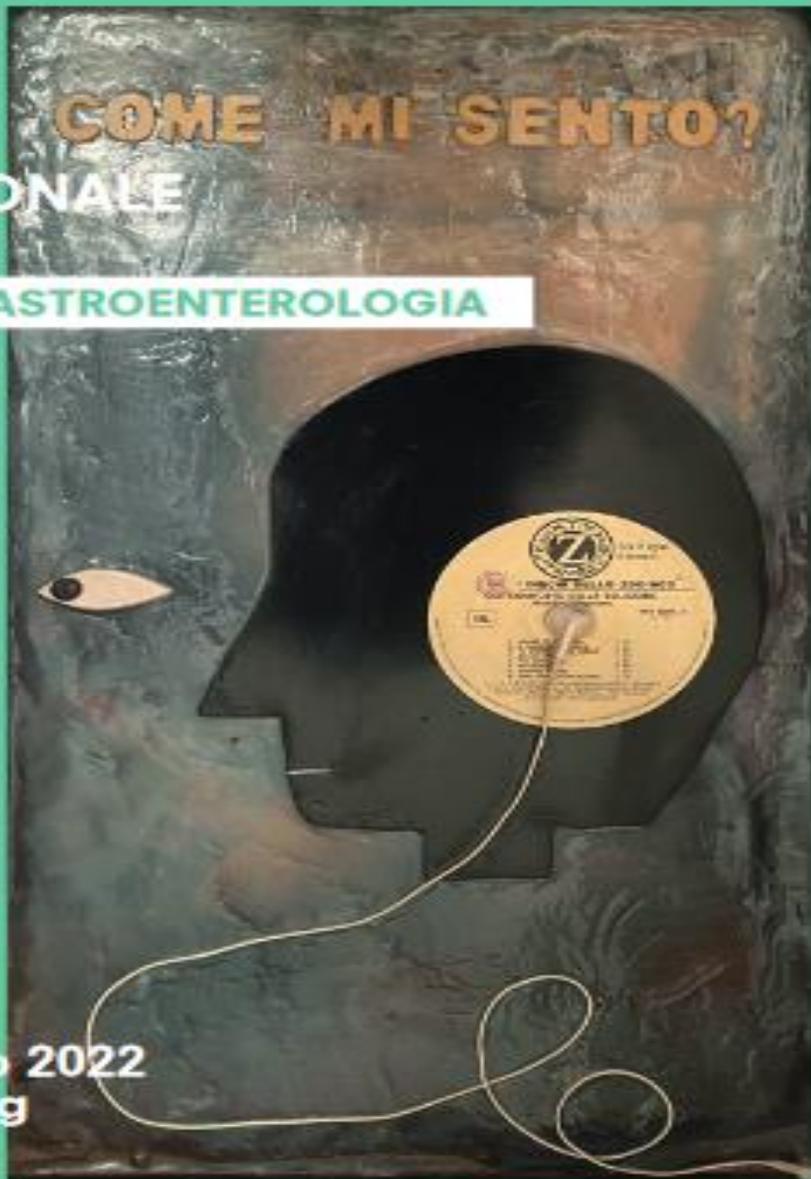
CORSO
INTERREGIONALE
A.I.G.O.

LA NUOVA GASTROENTEROLOGIA

EMILIA ROMAGNA
MARCHE
TOSCANA

RIMINI

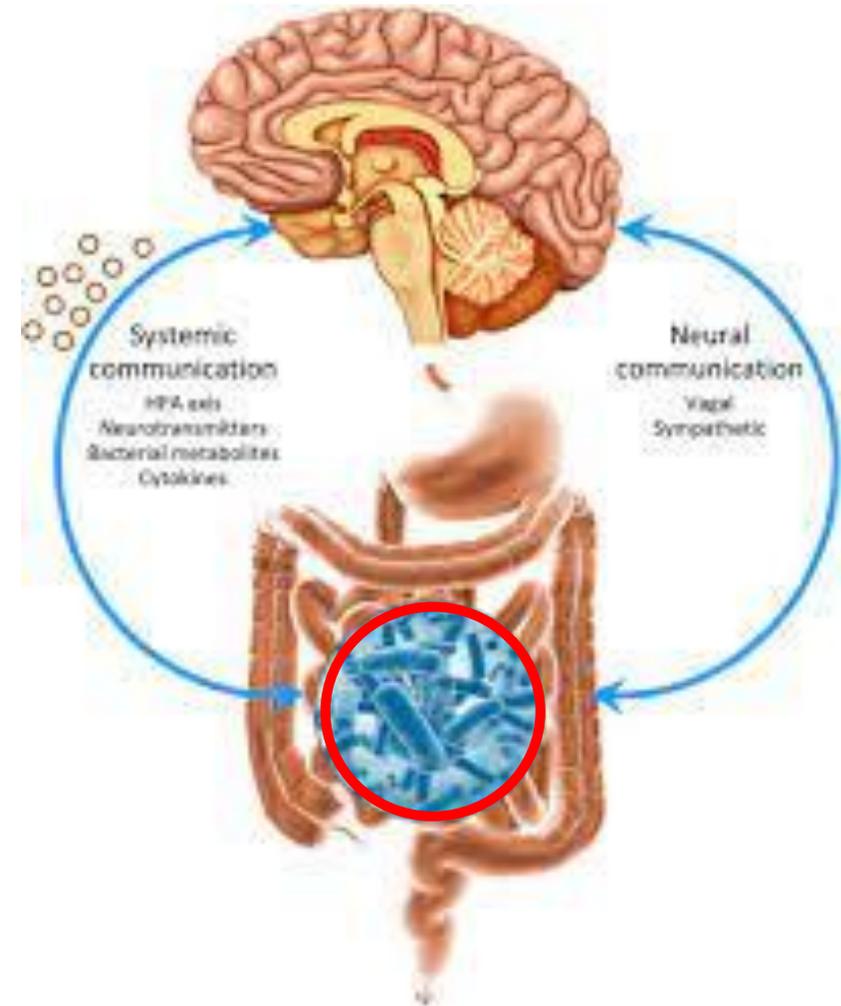
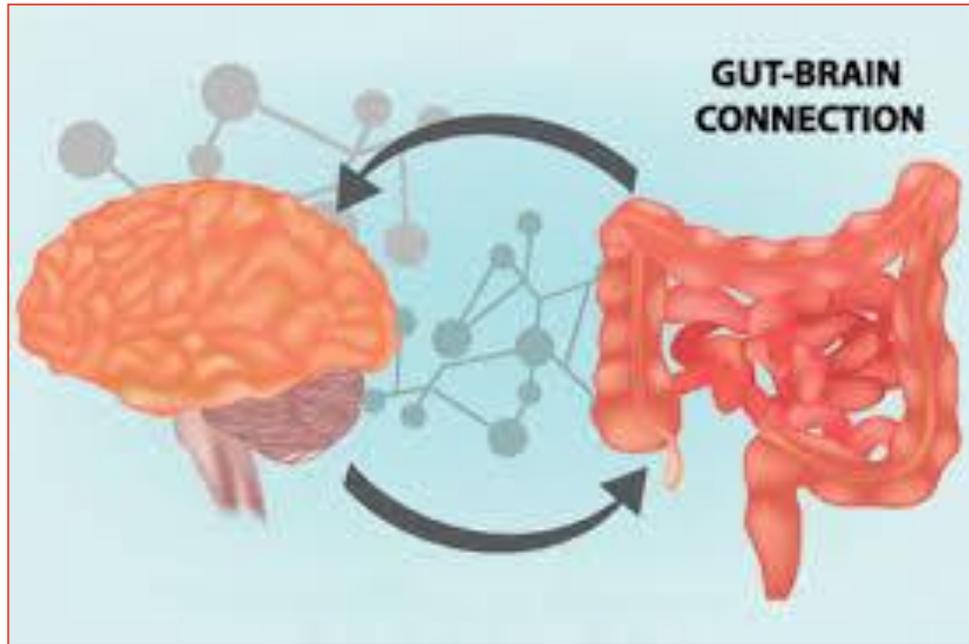
11-12 febbraio 2022
Hotel Sporting



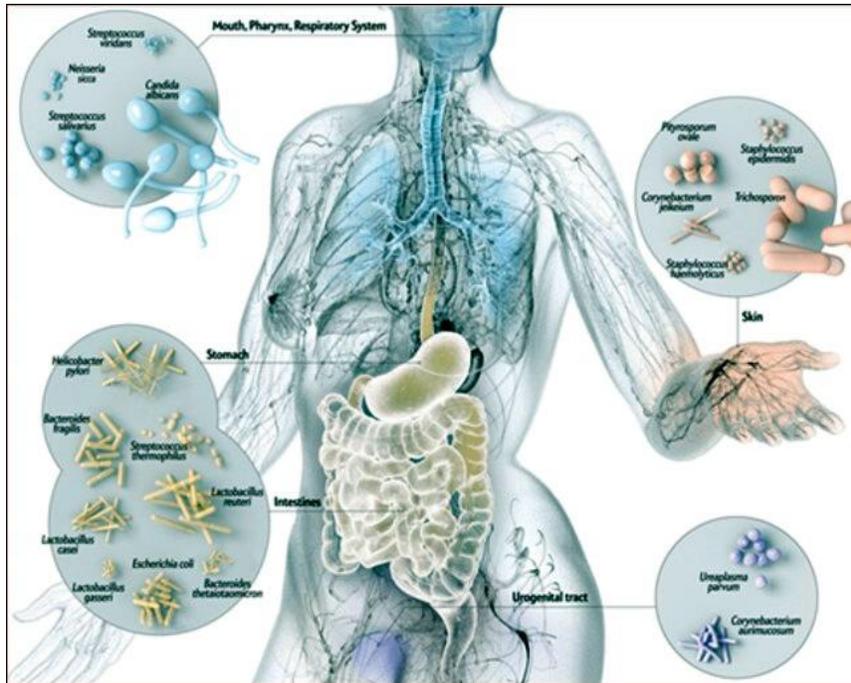
*“Brain-gut-microbiome axis,
la sfida del secolo”*

Chiara Racchini
UOC Gastroenterologia
Ospedale Santa Maria delle Croci
Ravenna

Gut –Brain \longrightarrow Gut-MICROBIOTA-Brain



CHE COS'E' IL MICROBIOTA

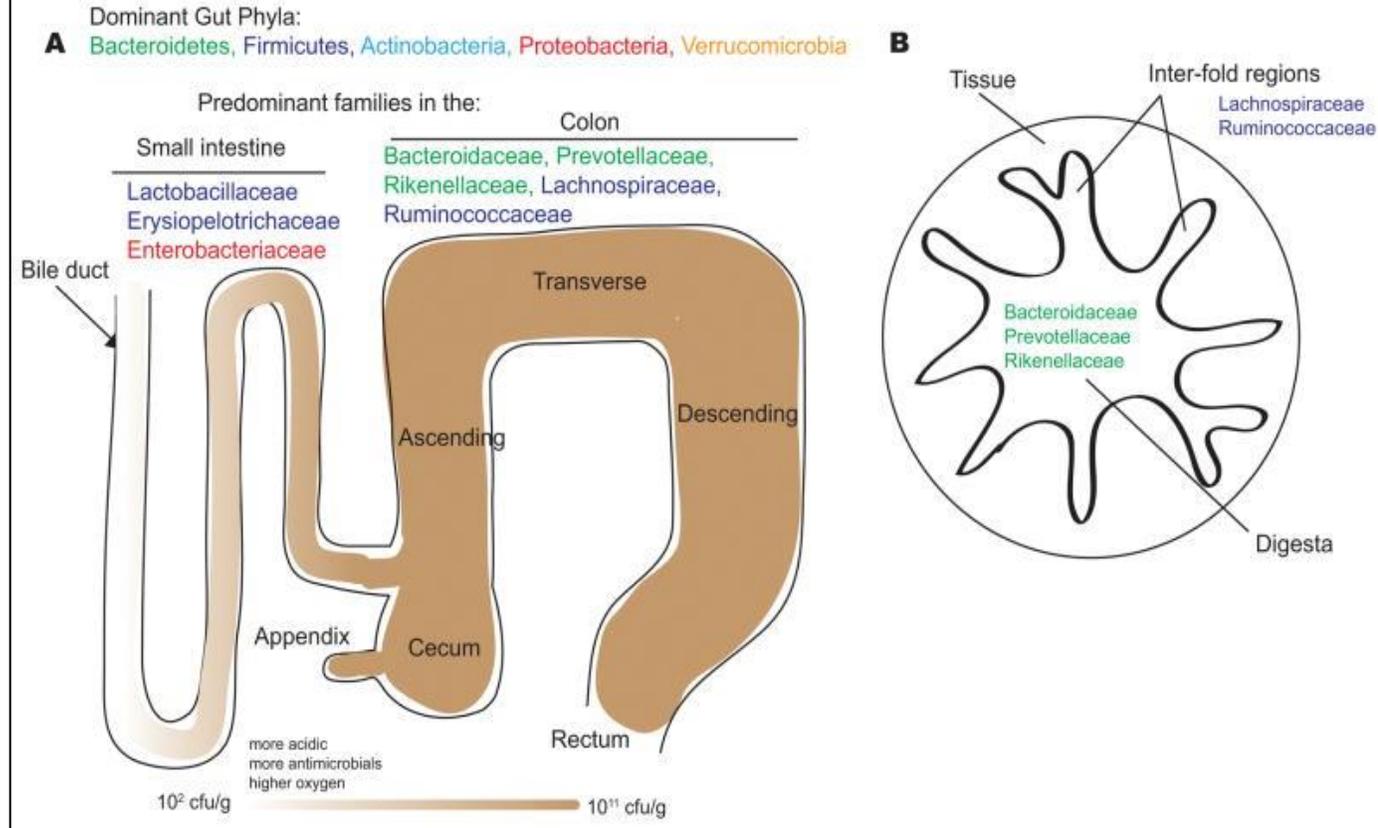
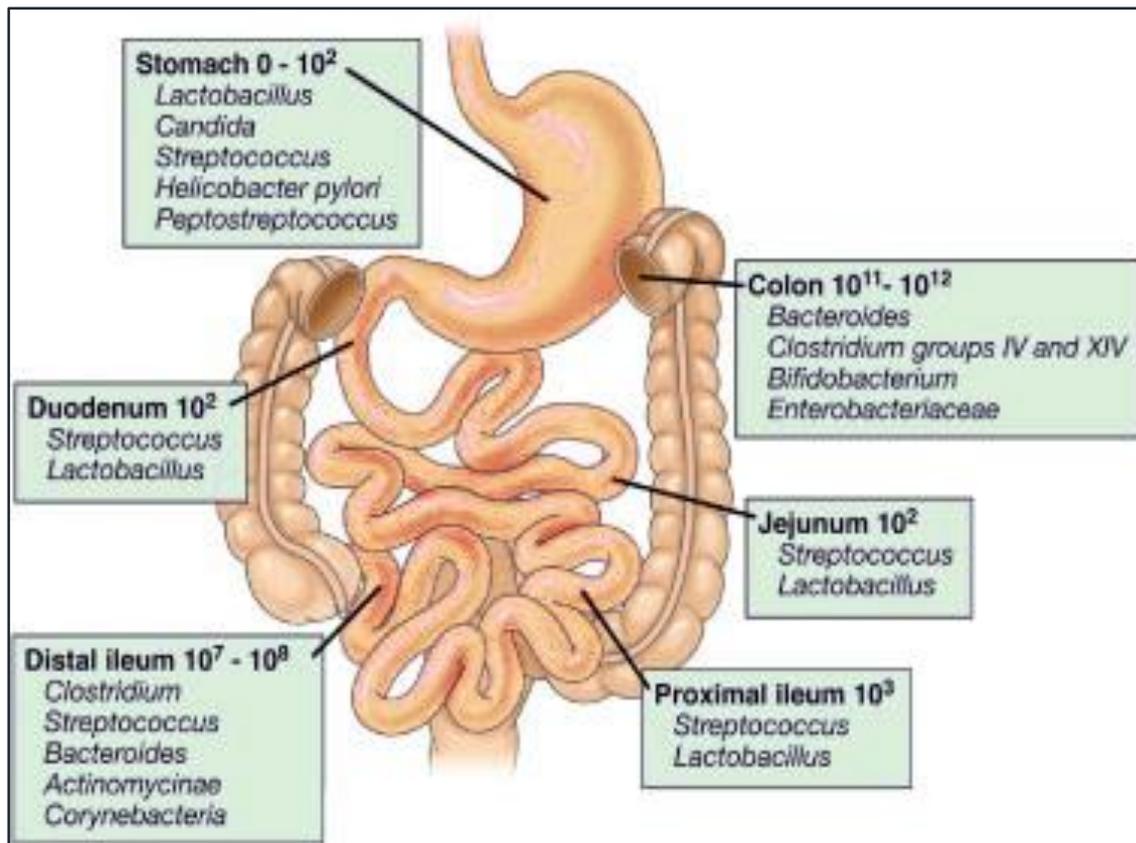


Comunità di microrganismi non patogeni → Archea, Batteri, Fagi, Virus, Funghi, Protozoi che vive in simbiosi con l'organismo umano, che funge da ospite.

→ 80% vive nel tratto GI

Per consuetudine si intende il solo microbiota procariota

MICROBIOTA GASTROINTESTINALE

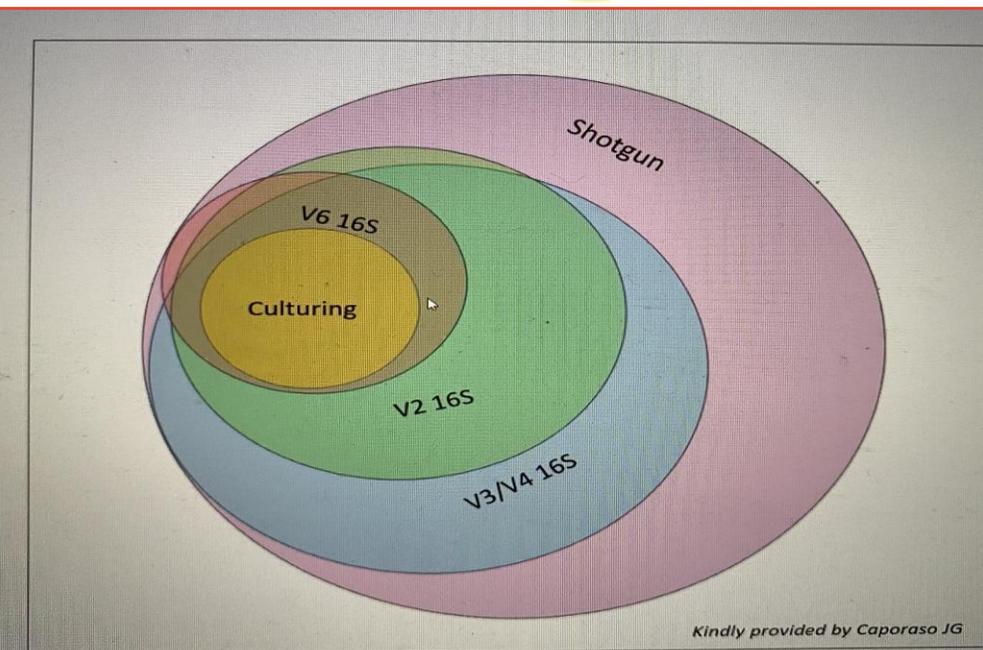
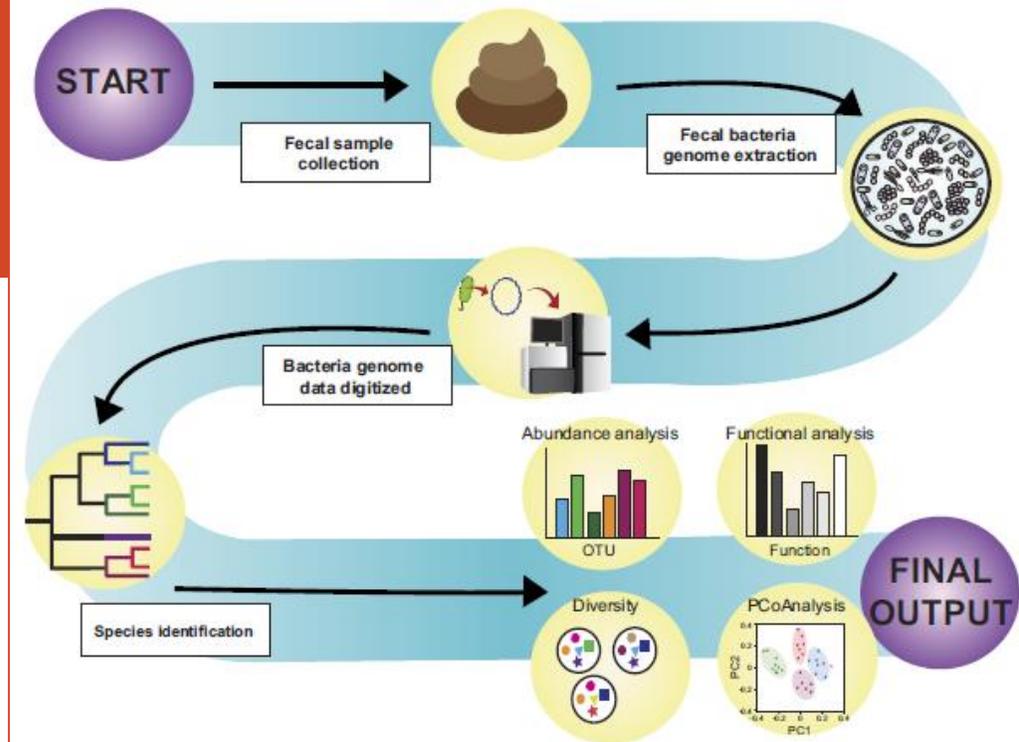


Il microbiota intestinale umano differisce a livello **quantitativo** e **qualitativo** lungo il tratto gastrointestinale

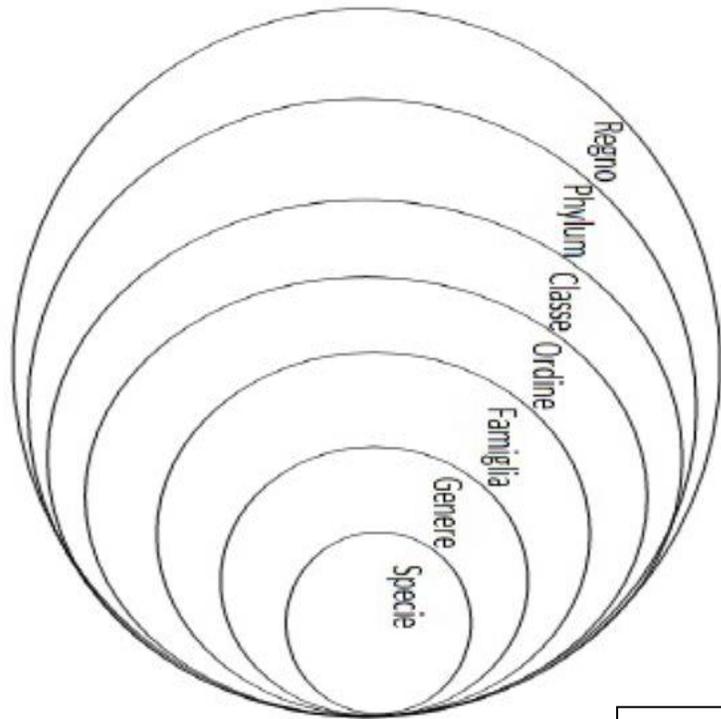
ANALISI DEL MICROBIOTA: BIOINFORMATICA

- Isolamento DNA batterico dai campioni fecali
- Amplificazione con PCR del gene ribosomiale RNA 16S e sequenziamento
- Generazione di OTU, sequenze simili raggruppate (Operational Taxonomic Unit)
- OTU: per distinguere specie diverse e classificazione tassonomica
- Valutare ALFA-BIODIVERSITA' → ricchezza del microbiota

MICROBIOTA SIGNATURE



MICROBIOTA: classificazione tassonomica



ESEMPIO: *Staphilococco aureus*

Regno: Bacteria

Phylum: Firmicutes

Classe: Cocchi

Ordine: Coccaceae

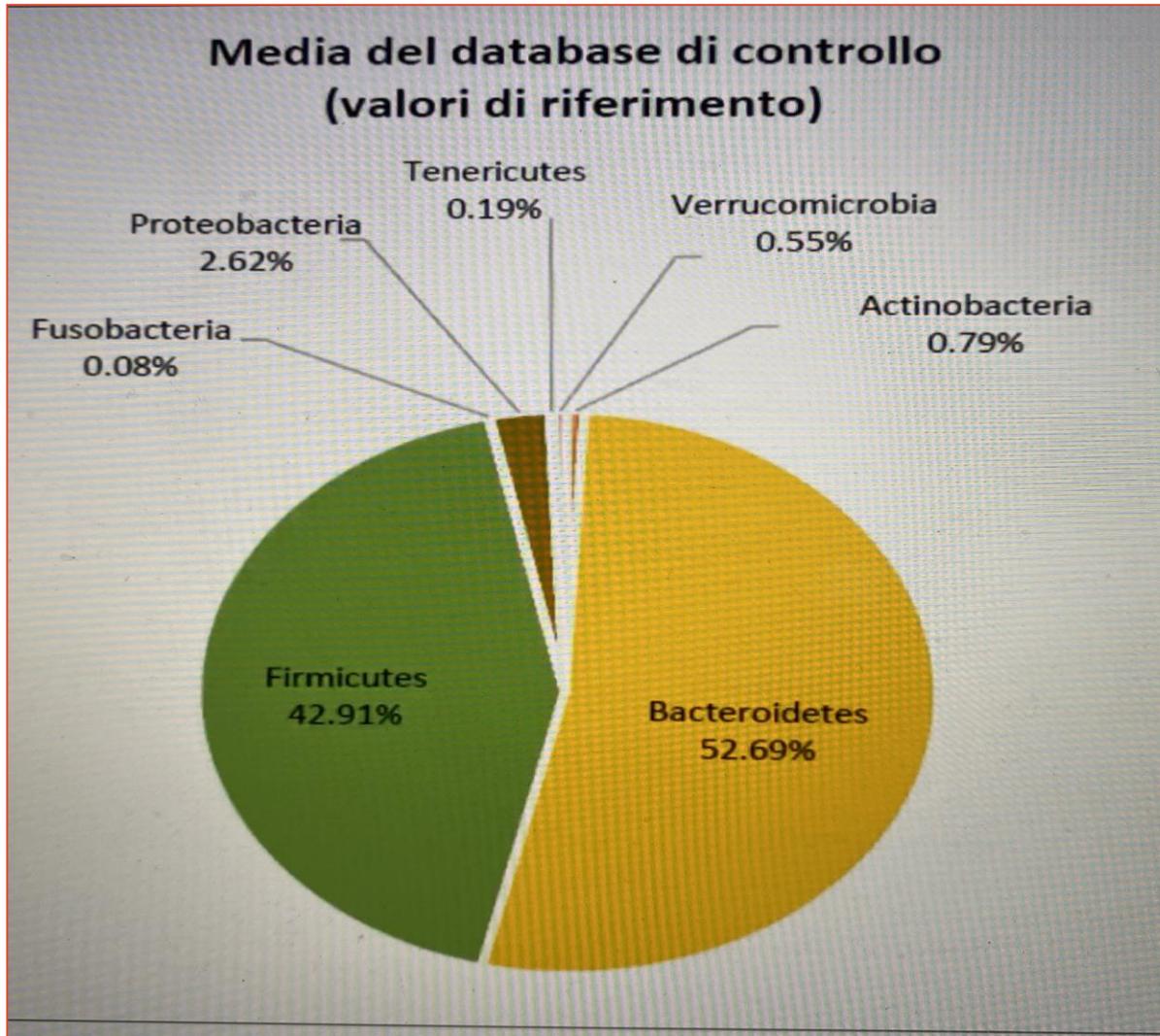
Famiglia: Staphilolcoccaceae

Genere: Staphilococcus

Specie: Staphilococcus aureus

MICROBIOTA UMANO: 500 PHYLA, > 1000 SPECIE

MICROBIOTA INTESTINALE ADULTO



> 90% 2 ceppi dominanti
**(Bacteroidetes,
Firmicutes)**

< 10% 5 sub-dominanti ceppi
**(Actinobacteria,
Proteobacteria,
Fusobacteria,
Cyanobacteria and
Verrucomicrobia)**

1000-1200 "filotipi"

50-80% Firmicutes dominanti
**Clostridium cluster IV e
XIVa**

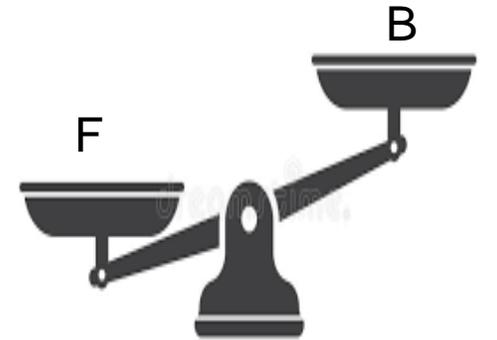
I PHYLUM DOMINANTI e gli ENTEROTIPI

BACTEROIDETES (gram -)

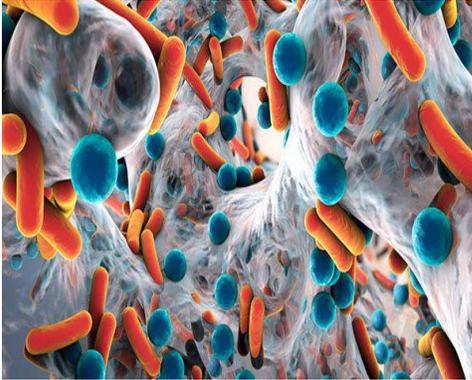
- caratterizzano diete occidentali miste, ricche di proteine, grassi animali, carboidrati
- protettivi verso obesità
- GENERI → *BACTEROIDES* → ENTEROTIPO 1 : dieta ricca di grassi saturi
→ *PREVOTELLA* → ENTEROTIPO 2 : dieta paesi poveri, pochi grassi

FIRMICUTES (gram +)

- caratterizzano diete occidentali ricche di grassi e carboidrati complessi, raffinati
- GENERE → *RUMINOCOCCUS* → ENTEROTIPO 3: infiammatorio
- *Faecalibacterium* → abile produttore di BUTIRRATO → protezione da RCU e MC



MICROBIOTA → MICROBIOMA → metagenomica



L'informazione genetica insita nel microbiota



Studio del genoma collettivo di una comunità di batteri e delle sue funzioni

MICROBIOTA + MICROBIOMA: che peso ha per l'ospite

- Per ogni cellula eucariota → 1 cellula batterica (rapporto 1,3 :1)
- Batteri intestinali: tra 30000 e 400000 miliardi
- Biomassa del peso complessivo di **2 hg** (non 2 Kg)
- **3.3 milioni di geni** comparati con i *sol*i 22.000 dell'intero genoma umano

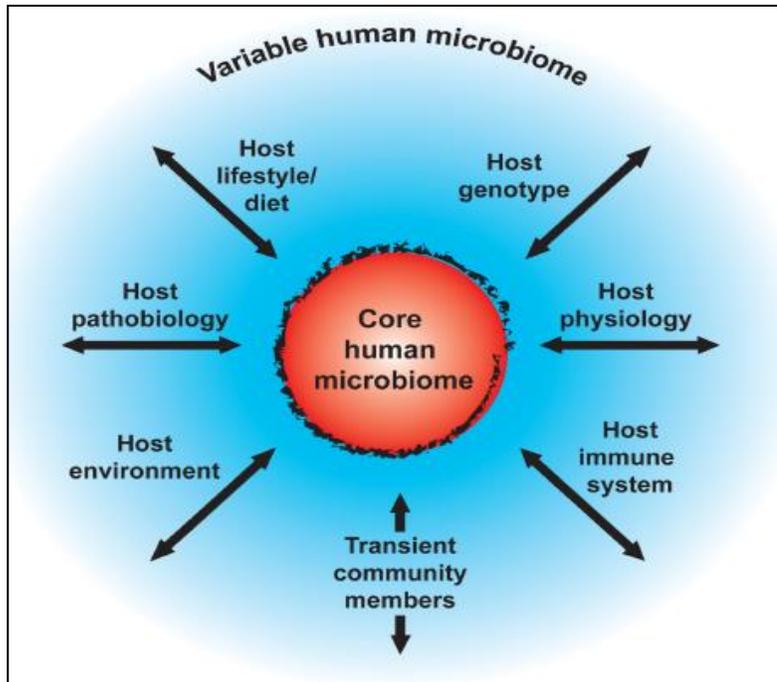
MICROBIOMA: 150 volte più ampio del genoma umano!

→ **ENORME IMPATTO SULL'OSPITE**

→ **PARTE VARIABILE DEL GENOMA UMANO**

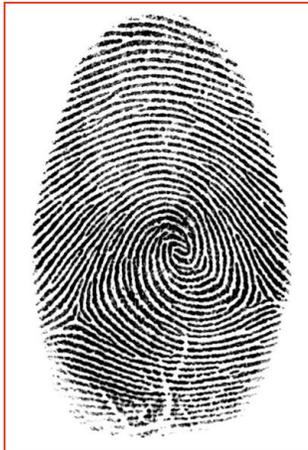
TEORIA HOLOGENOMICA

MICROBIOMA: ORGANO DINAMICO



- ✓ **Core Humane Microbiome:** insieme di geni comuni a tutti gli individui e stabile per tutta la vita
- ✓ **Variable human microbiome** parte variabile che si differenzia sulla base di diversi fattori (età, dieta, farmaci, genetica, ecc)

Grande variabilità del microbiota *intra* ed *interindividuale* → **MICROBIAL FINGERPRINT**



METAGENOMICA



Metagenomics of the
Human Intestinal Tract



Human Microbiome Project

GRANDI PROGETTI INTERNAZIONALI CON LO SCOPO DI:

- Caratterizzare la **composizione** e la **funzionalità del microbiota**
- Correlare i **cambiamenti del microbiota** con **alterazioni dello stato di salute**
- Sviluppare set di **sequenze di genoma** microbico di riferimento (> 1000 genomi): DATABASE

MICROBIOTA: ORGANO POLIFUNZIONALE e DINAMICO

- DEGRADAZIONE RESIDUI ALIMENTARI
- FUNZIONE BARRIERA
- COMPETIZIONE CON GERMI PATOGENI
- SINTESI METABOLICA
- PRODUZIONE ENERGIA
- OMEOSTASI SISTEMA IMMUNITARIO
- INFLUENZA SVILUPPO e FISIOLOGIA NEURONALE e IL COMPORTAMENTO

➤ IN EVOLUZIONE

➤ DISBIOSI → PATOLOGIA

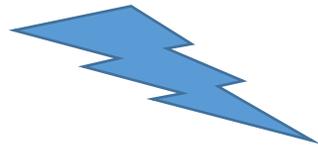
MICROBIOTA: nascita e sviluppo con l'età

- **NASCITA e ALLATTAMENTO:** microbiota semplice, instabile, volatile, dominato da *Bifidobacterium*.
 - parto vaginale (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*)
 - latte materno (*Lactobacillus*)
- **> 2-3 ANNI:** Inizia dieta solida
- **ETA' ADULTA:** stabilità, resilienza, pochi *phyla* (*Bacteroidetes* e *Firmicutes*)
molte specie utili (*Faecalibacterium prausnitzii* , *Akkermansia muciniphila*)
- **ETA' AVANZATA:** bassa alfa-diversità → microbiota instabile, peggior stato di salute

COLONIZZAZIONE NEONATALE: implicazioni per il futuro

Mancato o alterato dialogo
tra microbiota e ospite
nella prima infanzia:

**DISBIOSI NEONATALE
INFANTILE**



- MANIFESTAZIONE ATOPICA
- MALATTIE METABOLICHE → OBESITA'
- IBD
- SINDROME DEL COLON IRRITABILE
- DIABETE TIPO I
- DISTURBI NEUROLOGICI

PATOLOGIA NELL'ADULTO

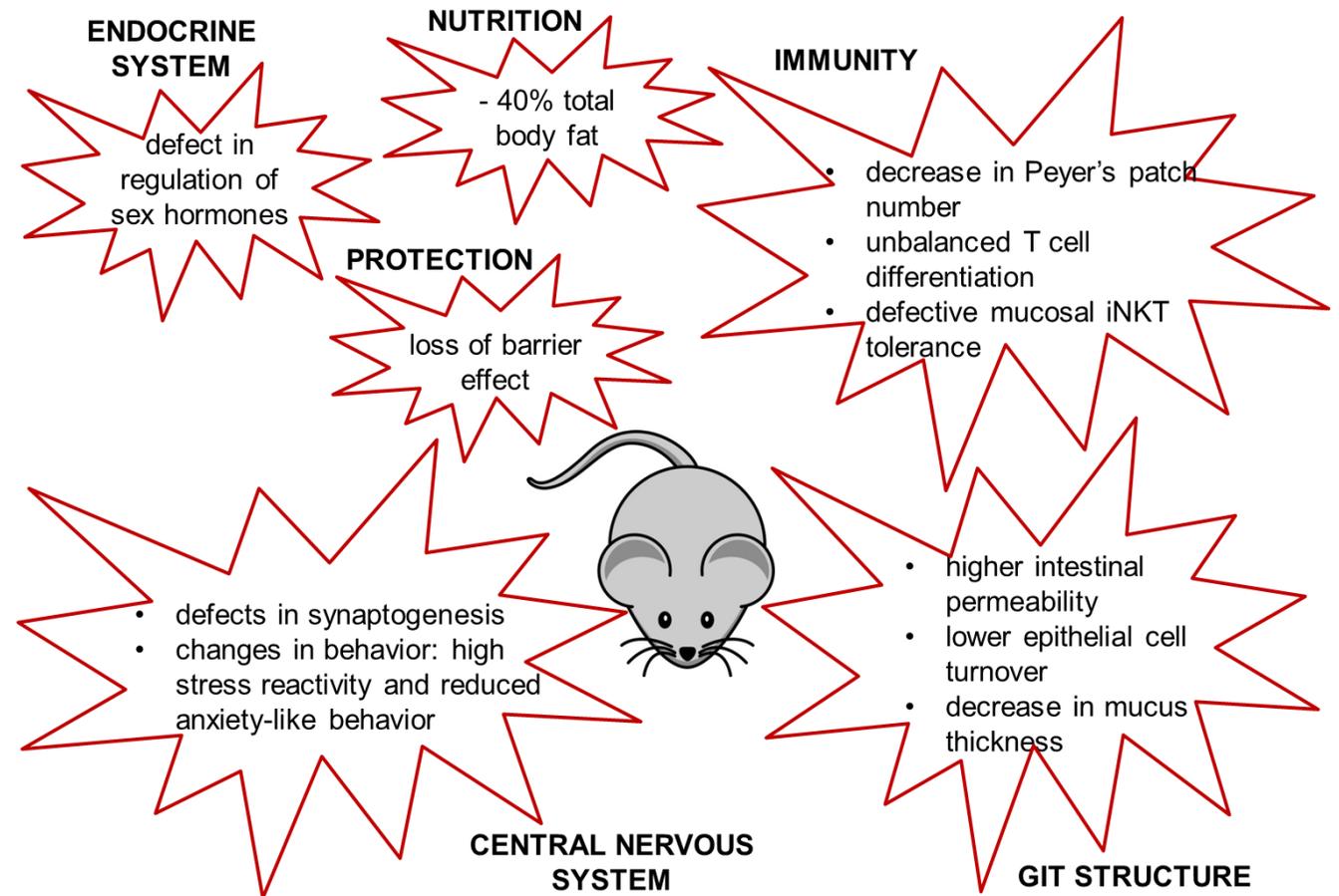
ASSE MICROBIOTA-OSPITE ESISTE?

Le conferme sperimentali su animali

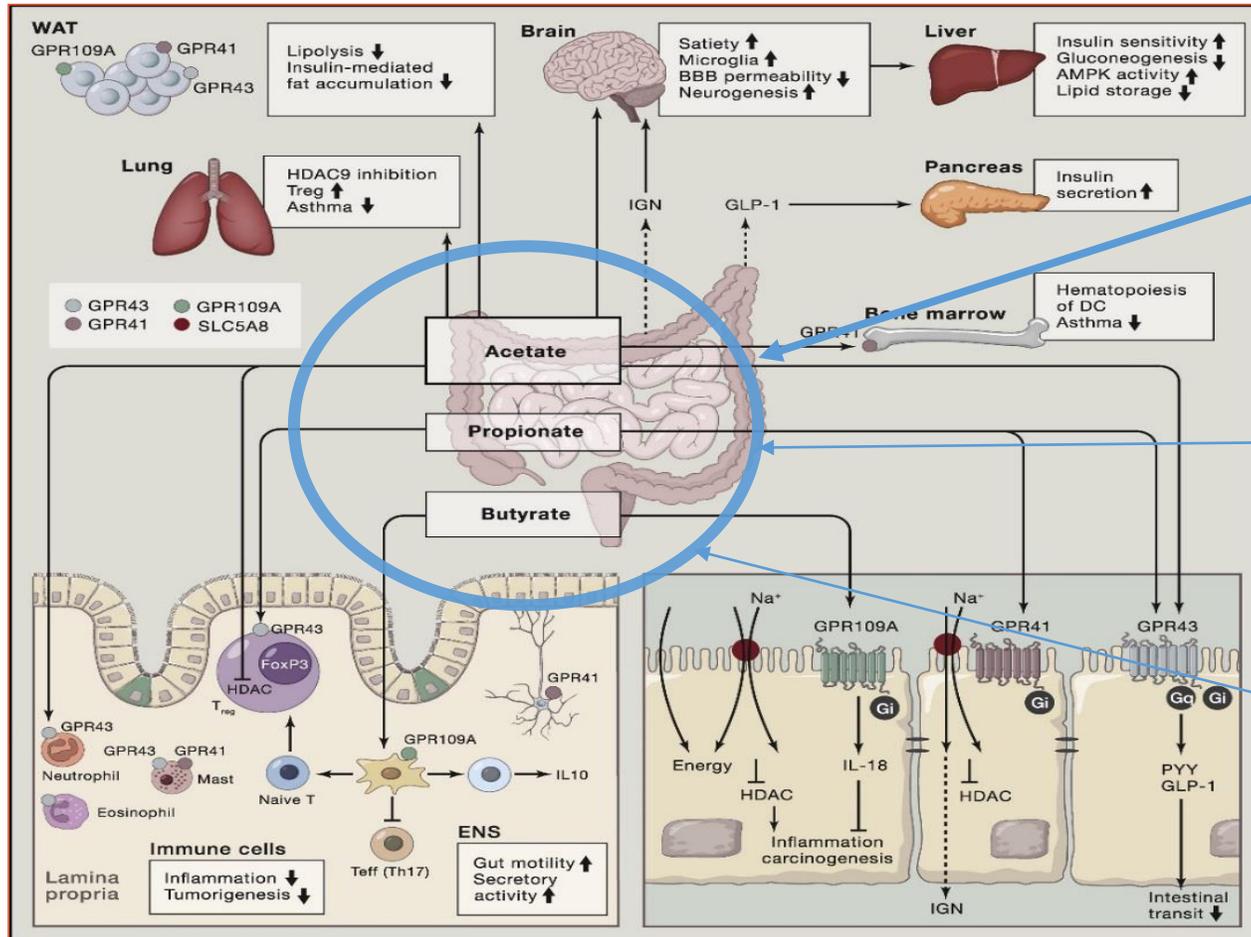
MOUSE GERM-FREE: animali GF hanno un peggior sistema immunitario, disregolazione dei segnali ormonali, metabolismo alterato e differenze nella neurotrasmissione

ANTIBIOTICI in fasi precoci di vita modificano fenotipi comportamentali

TRAPIANTO FECALE: può trasferire diversi fenotipi comportamentali tra cui ansia, depressione e fenotipi metabolici (insulino-resistenza, obesità)



ASSE MICROBIOTA – OSPITE: multiple interazioni

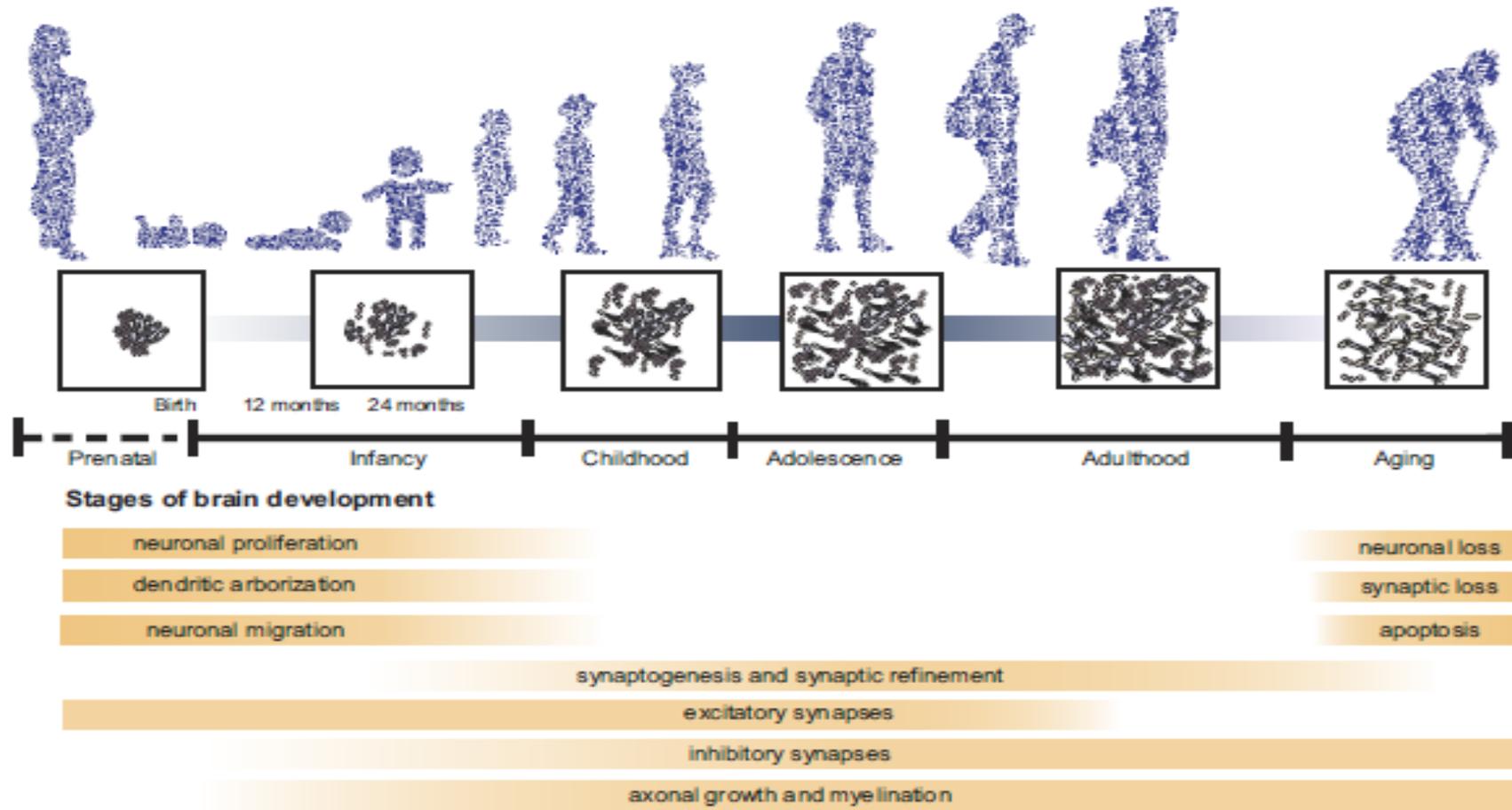


Modulazione
SNC e ENS

Omeostasi metabolica

Omeostasi immunitaria

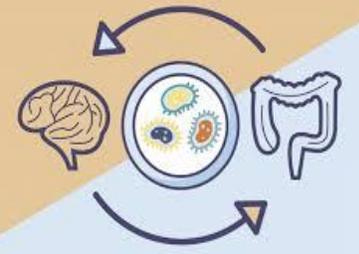
MICROBIOTA e SVILUPPO NEURONALE



Il microbiota si modifica nel corso della vita parallelamente allo **SVILUPPO NEURONALE**

GUT - MICROBIOTA - BRAIN - AXIS

→ *esiste una connessione fisica?*



- **COMUNICAZIONE BIDIREZIONALE** tra intestino, microbiota e Sistema Nervoso Centrale
- Collega i **centri cognitivi ed emozionali** cerebrali con le funzioni intestinali periferiche
- **Meccanismi: complessi e non del tutto compresi**
- Vie di trasmissione: **SNA, Nervo vago, Sistema nervoso enterico (ENS), Sistema immunitario intestinale, Asse HPA (ipotalamo-ipofisi - surrene)**
- Ruolo del **microbiota** → produzione di metaboliti, azione locale (cellule intestinali e ENS) e azione diretta (sul SNC)

METABOLITI del microbiota

Dal metabolismo di carboidrati, proteine e lipidi il microbiota produce:

- **SCFA** (acidi grassi a catena corta): acetato, propionato, butirrato
- **NEUROTRASMETTITORI**: GABA, SEROTONINA, dopamina
- **AMMINOACIDI**: TRIPTOFANO → indolo e scatolo
- **VITAMINE**: acido pantotenico, biotina, piridossina e riboflavina
- **LIPOPOLISACCARIDE , PEPTIDOGLICANI**
- **ACIDI BILIARI**

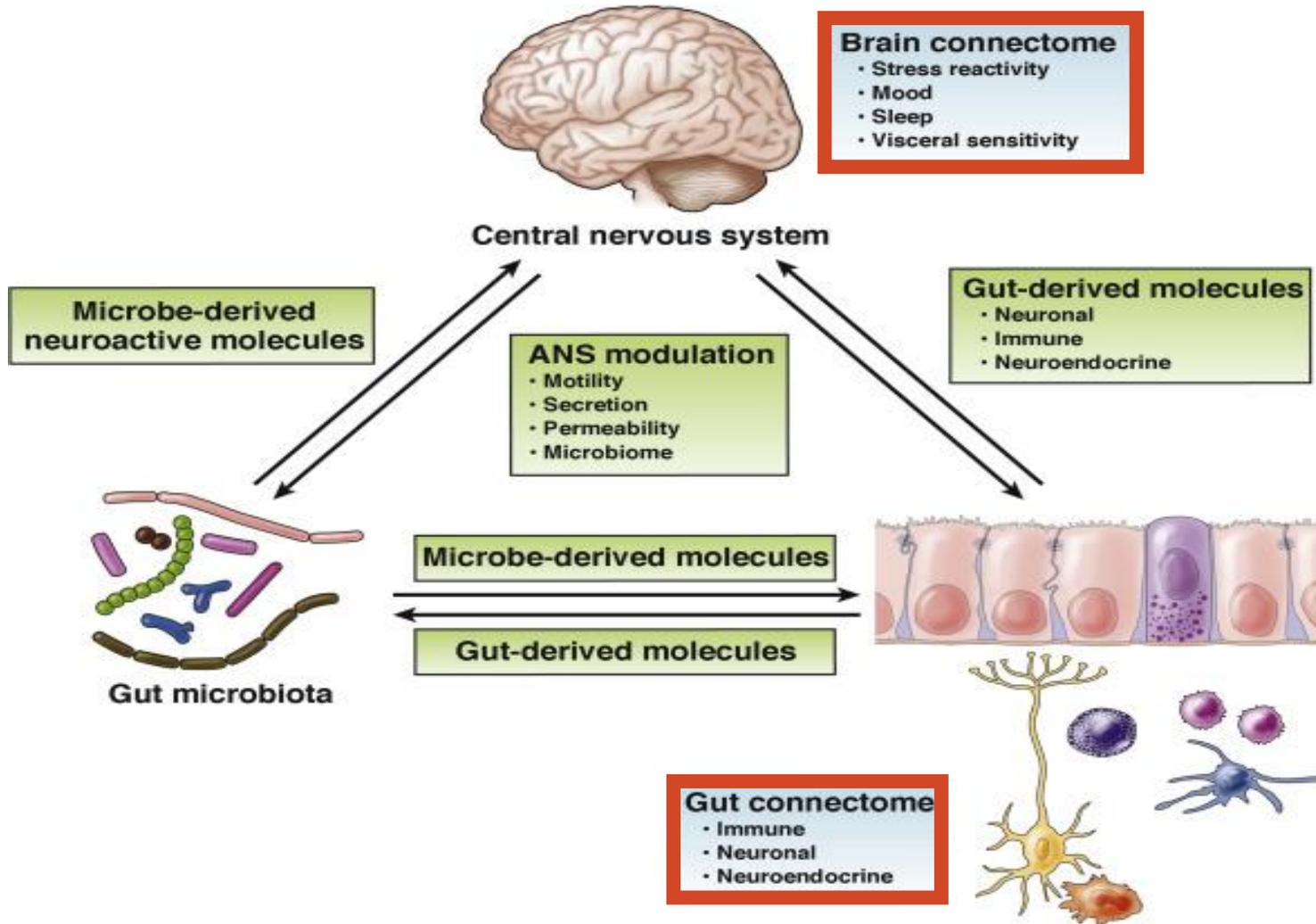
Dal GUT al BRAIN: quali meccanismi

- **METABOLITI del MICROBIOTA:** → regolano motilità, secrezione e segnali al cervello stimolando cellule **enteroendocrine (EEC)**, **enterocromaffini (ECC)** intestinali a produrre neurotrasmettitori
- **MOLECOLE NEUROATTIVE :** GABA , SEROTONINA, DOPAMINA → al SNC via nervo Vago
- **SISTEMA IMMUNITARIO MUCOSALE:** il microbiota attiva cellule Th 17 → CITOCHINE → alterazione barriera intestinale e nervi enterici → ipersensibilità viscerale e dismotilità → al SNC ansia e depressione
- **SISTEMA NERVOSO ENTERICO** → «**second brain**» (plesso sottomucoso e mioenterico). Peptidoglicani e LPS riconoscono Toll-like receptors TLRs: infiammazione.

Dal **BRAIN** al **GUT** : quali meccanismi

- **NERVO VAGO:** «l'autostrada principale» tra SNC e intestino, segnale mediato da neurotrasmettitori
- **SNC → SNA** (simpatico e parasimpatico): regola le funzioni intestinali regionali → secrezione, permeabilità intestinale e risposta immune mucosale → altera la fisiologia intestinale → modifica habitat e composizione del microbiota .
- **MOTILITA' INTESTINALE:** modificare tempo di transito intestinale → altera il contenuto di acqua, la disponibilità dei nutrienti e la clearance batterica → altera la composizione microbica
- **PERMEABILITA' INTESTINALE:** stress cronico aumenta la permeabilità intestinale → traslocazione patogeni → attivazione infiammatoria

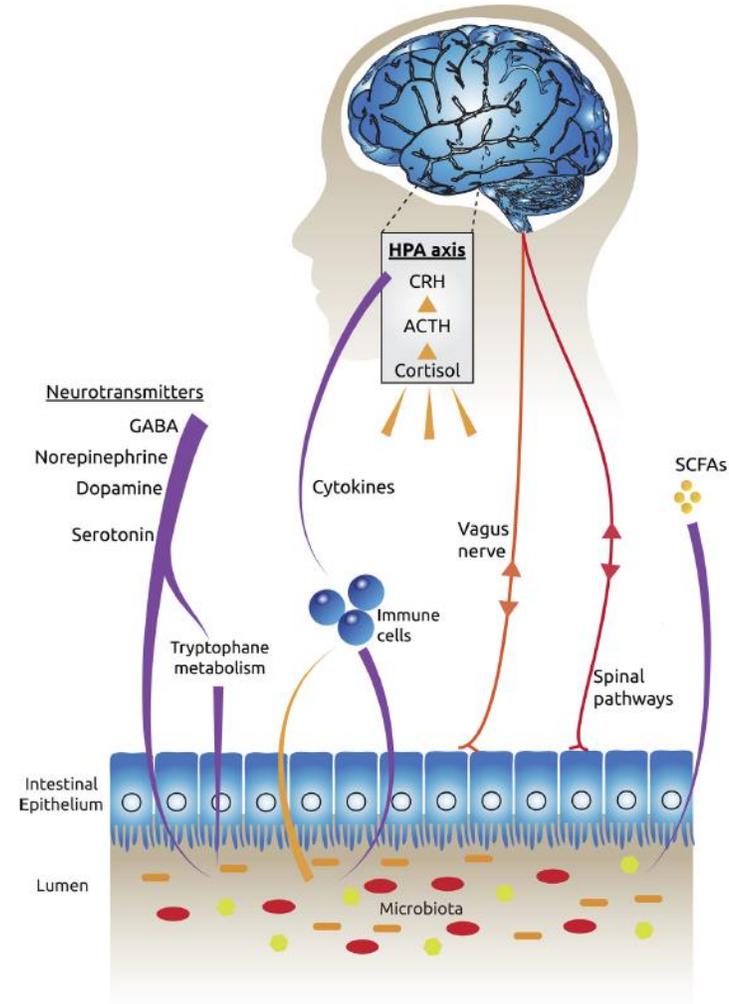
ASSE BRAIN- GUT- MICROBIOTA



ALTRI SISTEMI COINVOLTI.....

ASSE IPOTALAMO-IPOFISI-SURRENE (HPA)

- Via principale non neuronale di comunicazione con l'asse microbiota-gut-brain
- Principale coordinatore della risposta allo STRESS psicologico o fisico → “fight or flight”
- Animali GF sottoposti a STRESS hanno iperattivazione HPA con elevata produzione di cortisolo



LE BARRIERE da superare per i segnali

La quantità di informazioni bidirezionali è variabile e dipende dallo stato dell'ospite



Stress , infiammazione e il microbiota possono alterare la **PERMEABILITA'** di due barriere

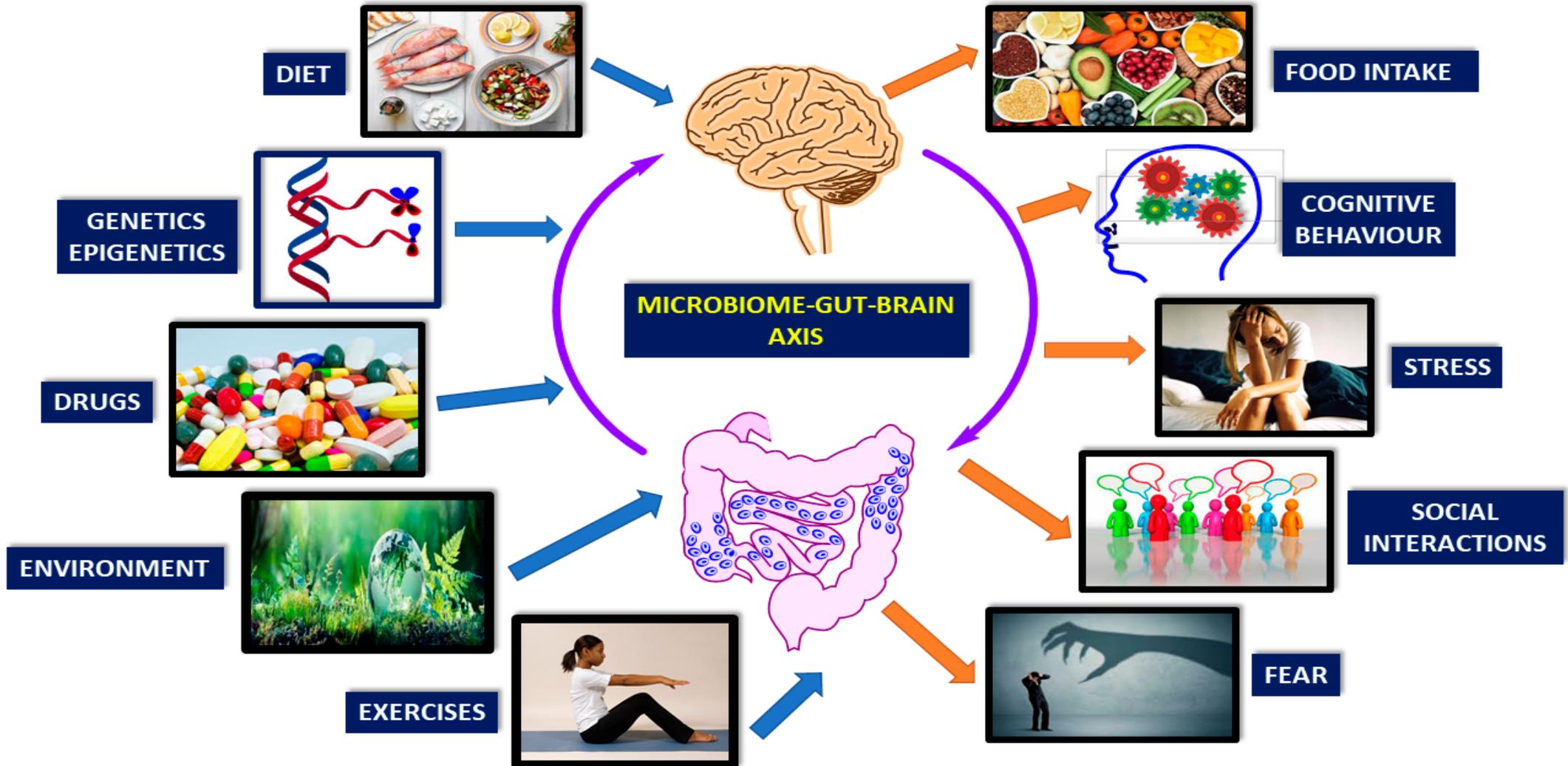
BARRIERA INTESTINALE

- strato epiteliale connesso con tight junctions
- 2 strati di muco: *esterno* e *interno*

BARRIERA EMATOENCEFALICA

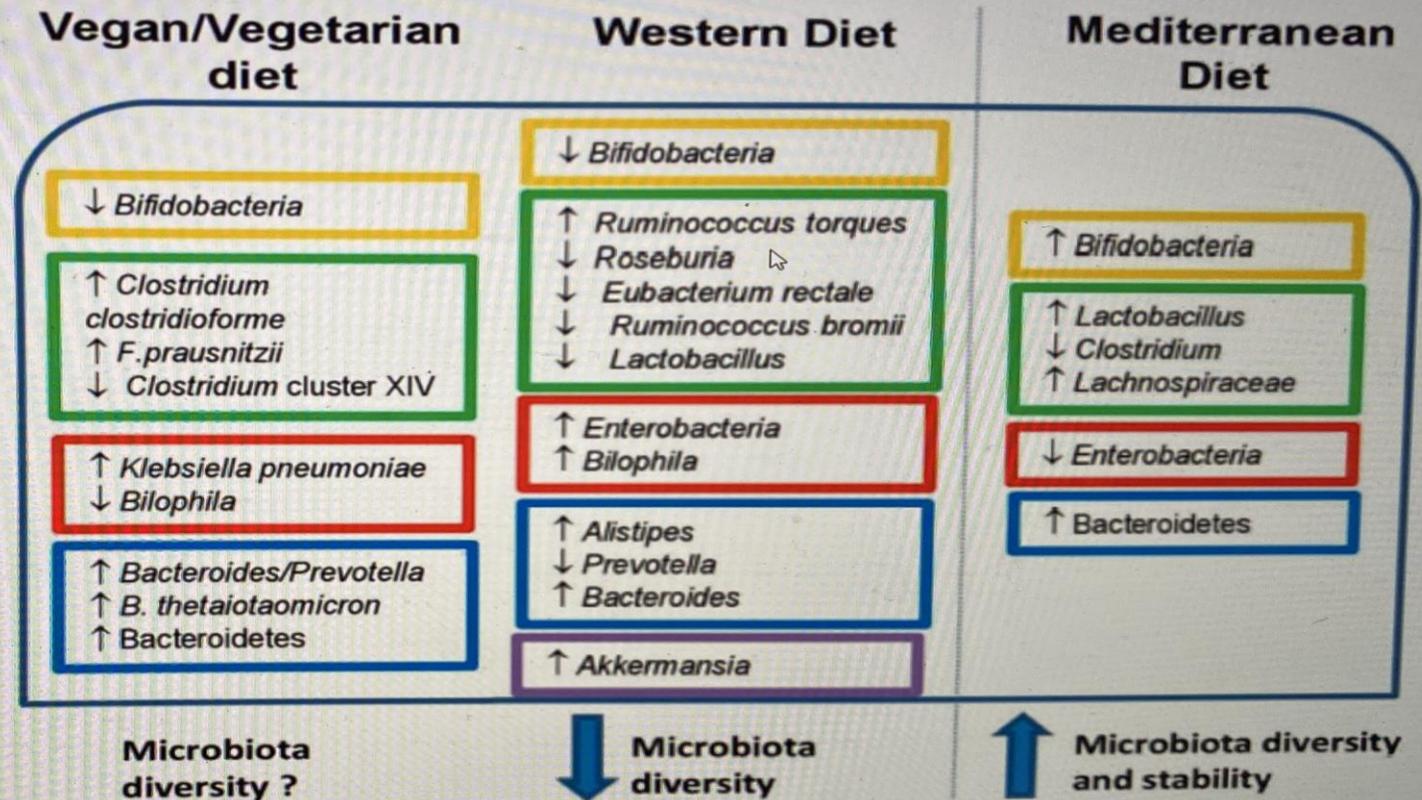
Il microbiota può modificare l'espressione di proteine tight junction (occludina e claudina-5) diminuendo la permeabilità

BRAIN-GUT-MICROBIOMA AXIS: asse interattivo



DIETA : il maggior impatto sul microbiota e sull'ospite

Regimi dietetici diversi modificano la composizione del microbiota



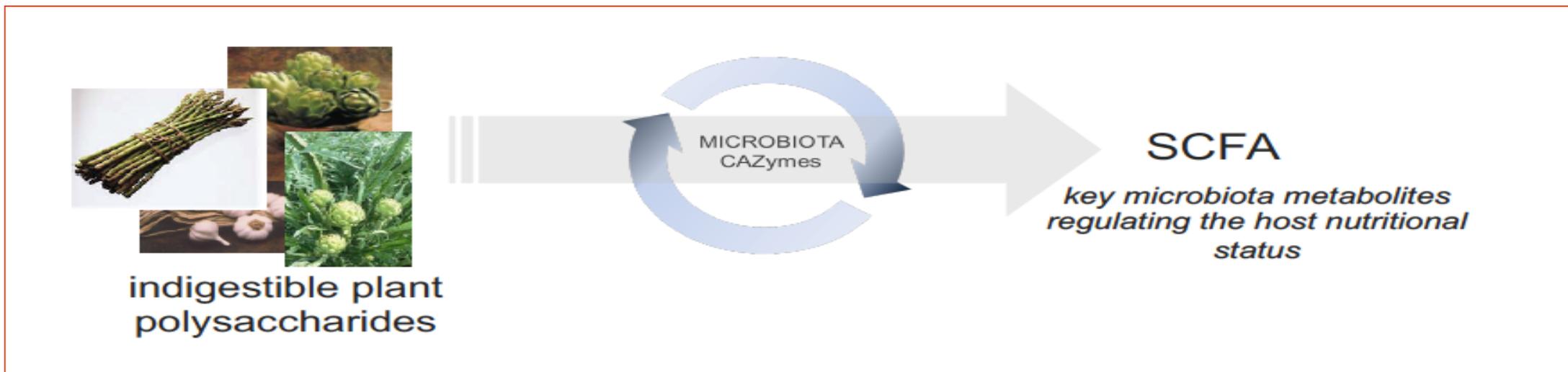
DIETA RICCA DI FIBRE: dieta mediterranea

FIBRE POLISACCARIDICHE INDIGERIBILI (pectina, cellulosa, amidi resistenti) → metabolizzate dal microbiota (CAZymes assente nell'uomo)

Produzione di SCFA: > **BUTIRRATO** → EFFETTO PROTETTIVO SULL'OSPITE

Aumento *Bacteroides* e *Clostridium phyla*, riduzione in *Proteobacteria* e *Firmicutes phyla*

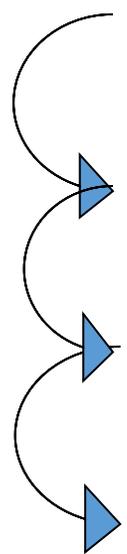
Ridotta incidenza di disturbi psicologici, malattie metaboliche e neurodegenerative, cancro



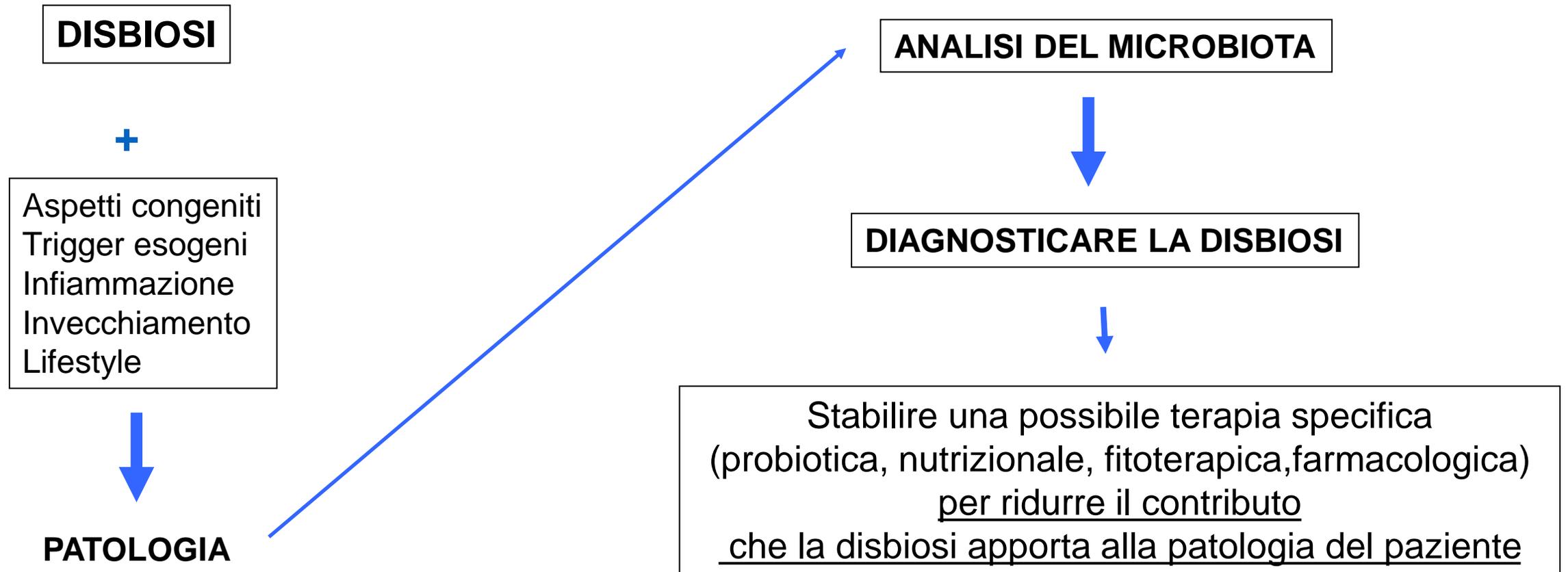
Alterazione ASSE GUT-BRAIN: FGID

- I disturbi funzionali GI (**FGID**) colpiscono > 1/3 della popolazione mondiale
- IBS è il più comune disturbo dell'interazione «gut-brain», 5 % della popolazione
- Rinominati **DGBI (disorder gut-brain interaction)**: correlati ad alterazioni dell'asse gut-brain, mediati da alterazioni ENS e asse HPA
- > 50% pazienti con criteri diagnostici di ansia/depressione soffrono di IBS
- Ma anche alterazione del microbiota: aumento del rapporto Bacteroidetes/Firmicutes
→ **DISBIOSI**
- Ma il ruolo causale della disbiosi ancora da confermare (eterogeneità degli studi)

DISBIOSI: uguale patologia?

- 
- ESPOSIZIONE** a fattori estrinseci (dieta, antibiotici, stress, ..)
 - ROTTURA OMEOSTASI** tra specie batteriche diverse
 - RIDUZIONE** della ricchezza della varietà di specie (**alfa-diversità**)
 - TRIGGER ?** per patologie GI e non: IBS, obesità, MICI, resistenza insulinica, disturbi del sistema nervoso centrale (SNC) e neoplasie

Manipolare il microbiota : opzione terapeutica?



ANALISI DEL MICROBIOTA

Studio analitico e tassonomico del consorzio batterico fecale
con particolare riferimento a quello luminale-colonico

VANTAGGI

- Invasività nulla e ripetibilità illimitata

LIMITI

- Non rappresentativo di consorzi delle mucose del colon e di derivazione tenue e stomaco
- Metodi analitici diversi, pochi con certificazione (Wellmicro, Mymicrobiota..)
- difficile interpretazione dei dati, cultura insufficiente

OFFRE MISURAZIONI RELATIVE E NON ASSOLUTE
ANCORA DIFFICILE UTILIZZO NELLA REAL LIFE

PROBIOTICI, PREBIOTICI, PSICOBOTICI: teoricamente efficienti, in pratica poco efficaci?

- **PROBIOTICI:** VIVI e VITALI, con ceppi tipizzati e selezionati per scopi precisi, ben confezionati, dose giusta (>1 miliardo/die)
- Probiotici a base di *Bifidobacterium* e/o *Lactobacillus*: il loro uso ha dimostrato miglioramento dei sintomi IBS ma ancora *raccomandazioni deboli* (linee guida)
- **PREBIOTICI** (FOS, GOS, inulina): stimolano la crescita del microbiota (> *Bifidobacterium* e *Faecalibacterium prausnitzii*), ma anche azione antiinfiammatoria
- **PSICOBOTICI:** probiotici o prebiotici che influenzano la relazione microbiota-cervello; *Faecalibacterium prausnitzii* e *Bifidobacterium Adolescentis* → antidepressivi e ansiolitici (GABA produttori)

TRAPIANTO FECALE: il futuro?

- Attualmente indicato solo per la cura di infezioni ricorrenti da Clostridium Difficile
- Fornisce al paziente un microbiota sano e funzionale → trapianto di tessuto

Applicazioni future:

- cura di patologie dove si ipotizza effetto trigger microbiota disbiotico: IBD, IBS, DISORDINI NEUROLOGICI (Parkinson, Autismo, Sclerosi multipla), SINDROME METABOLICA, INSULINO-RESISTENZA, DISTURBI COMPORTAMENTALI → risultati promettenti su animali, ma ancora pochi trial sull'uomo
- Identificare *super-donatori*: elevata ricchezza microbica (> Faecalibacterium prausnitzii)
- FMT autologo pre-chirurgia colon per ricostituire un microbiota sano

CONCLUSIONI

- ➡ L'esistenza dell'asse microbiota-ospite ci impone di continuare a studiare il microbiota, il suo metaboloma e le intime relazioni che si sviluppano con l'ospite.
- ➡ Non è ancora certo se l'alterazione del microbiota sia conseguenza di una patologia o al contrario sia il trigger di molteplici meccanismi locali e sistemici che promuovono l'insorgenza di malattie.
- ➡ Il fine ultimo: riuscire a manipolare il microbiota umano per diminuire il rischio di malattie o alterare vie metaboliche dannose per la salute e studiare nuove possibilità profilattiche e terapeutiche.

WORK IN PROGRESS