

DISBIOSI INTESTINALE E PATOLOGIE CORRELATE

CAM MONZA VIA ELVEZIA

04-03-2013

INTESTINO AL CENTRO DELLA VITA

- Noi siamo un intestino che nel corso dell'evoluzione si è dotato di una serie di accessori utili e funzionali.
- L'intestino con i suoi accessori costituisce quello che noi chiamiamo “CORPO”

L'ETA' DEI NOSTRI ORGANI

- È l'intestino a vantare una storia antica di ben più di 500 milioni d'anni.
- L'intestino è presente in una forma primitiva dei metazoi: hydra viridis
- Il polpo d'acqua dolce (5mm) si ciba di crostacei, vive in simbiosi con le alghe verdi, ha una struttura cilindrica con bocca e vibrisse, privo di un cervello riconoscibile ha in sua vece intorno alla bocca una fascia di neuroni.
- **IL CERVELLO NASCE DALL'INTESTINO!**

I DUE CERVELLI

- La salute di un individuo si basa sull'equilibrio tra il cervello superiore (coscienza) e quello inferiore (peristaltico).
- I due cervelli dialogano incessantemente tra loro e usano pure gli stessi mediatori chimici.
- I farmaci ad azione centrale hanno ripercussioni a livello del S.N.E. e viceversa.

- Philippe Sansonetti direttore dell'istituto Pasteur di Parigi, ha affermato che il microbiota ha una attività metabolica pari a quella del fegato di cui ignoriamo praticamente tutto.
- Ad oggi, ad esempio, gli unici due studi sui batteroidi, che sono il 60% della popolazione batterica umana, sono stati eseguiti a S. Louis dal Prof. J. Gordon solo nel 2008

QUEST'ORGANO È COSTITUITO DA UN NUMERO DI CELLULE CHE È 10 VOLTE SUPERIORE A QUELLO DI TUTTI GLI ALTRI ORGANI MESSI INSIEME, MA NON CE NE CURIAMO, ANZI, SPESSO LO MALTRATTIAMO.....

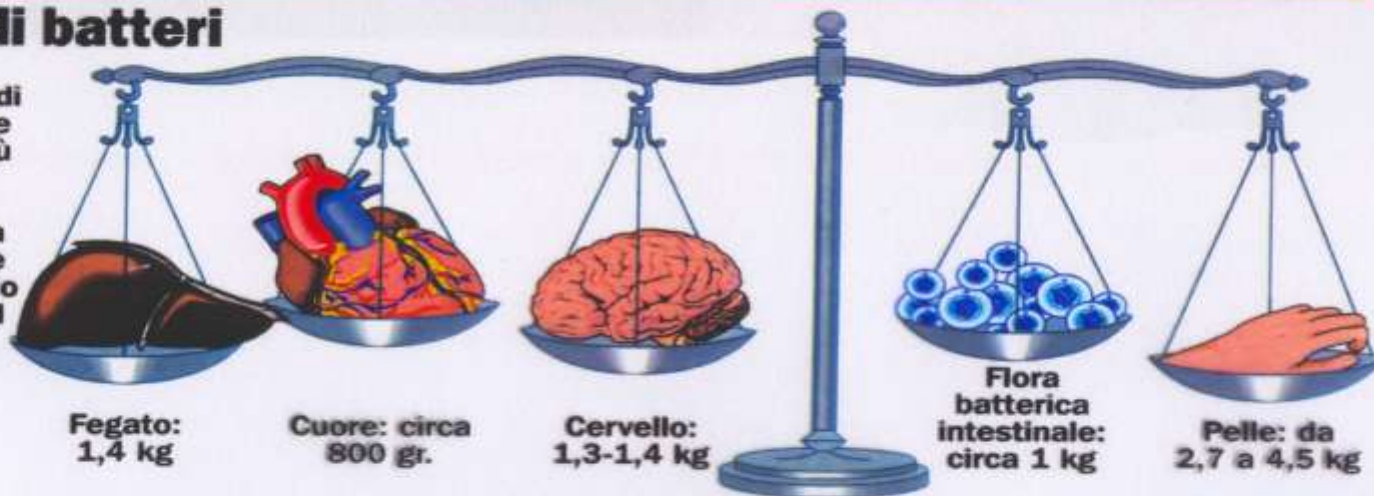
Pesa più
del cuore, è
indispensabile.

È dentro la pancia
eppure è invisibile

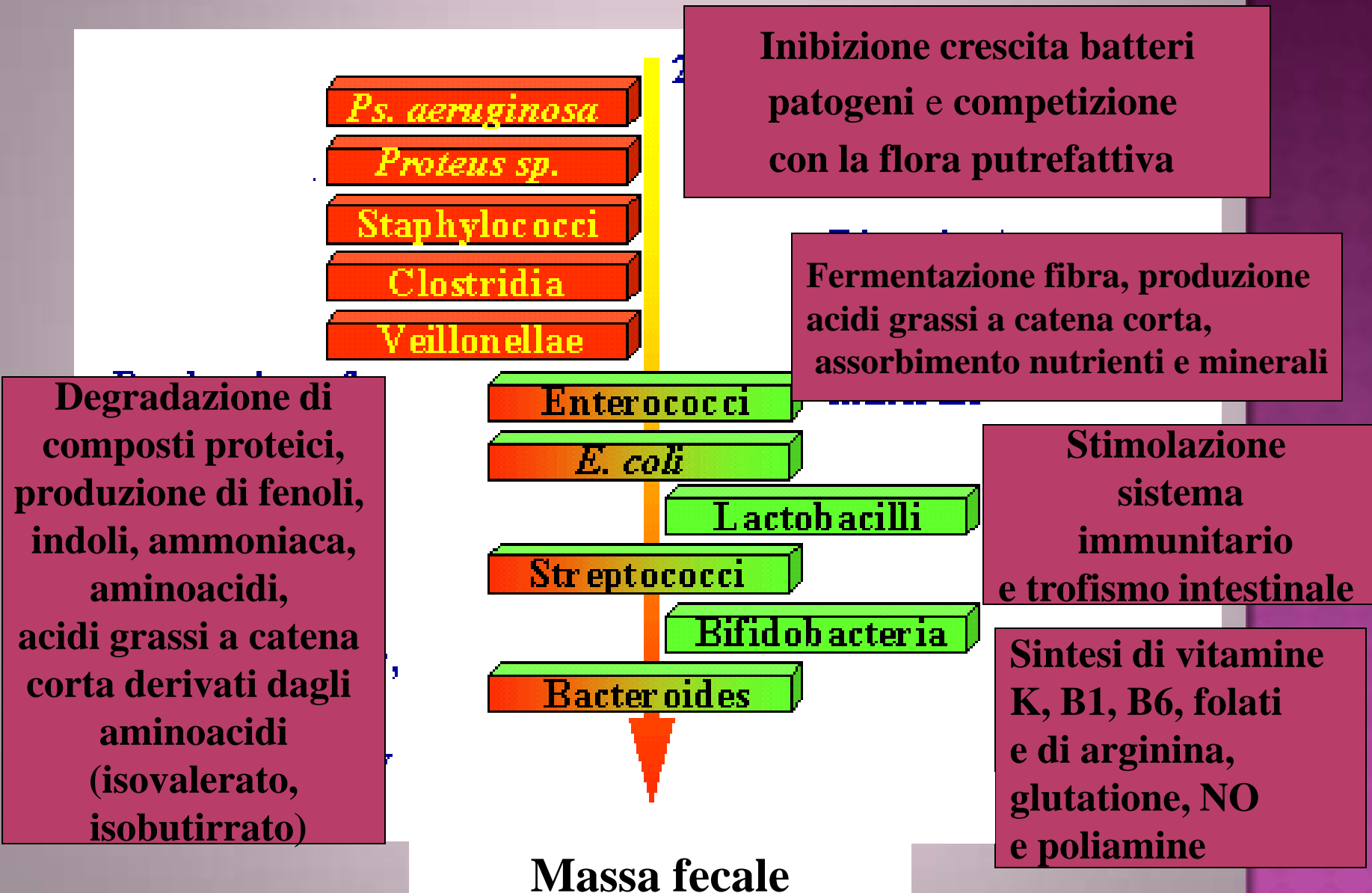
L'organo *nascondito*

Miliardi di batteri

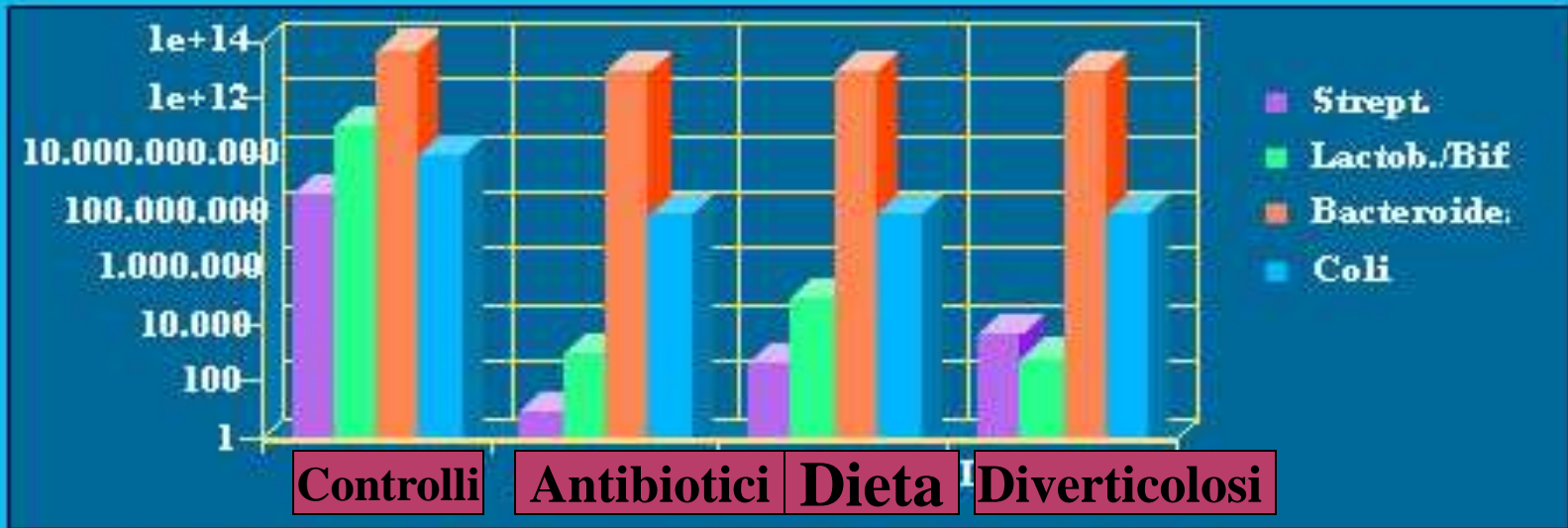
100.000 miliardi di cellule, anche dieci volte di più di tutte quelle che formano il corpo umano: la flora batterica è un vero e proprio organo, che, nel suo insieme, può pesare anche un chilo.



FUNZIONI DELLA MICROFLORA



MICROFLORA DEL COLON IN DIVERSE CONDIZIONI



PRINCIPALI FUNZIONI DEI BATTERI

- 1 **Produzione di nutrienti** Acidi grassi, acidi grassi a catena corta, aminoacidi (arginina, glutamina, cisteina)
- 2 **Sintesi di:** Vitamine, antiossidanti (glutazione)
- 3 **Prevenzione della crescita di batteri patogeni**
- 4 **Stimolo del sistema immunitario intestinale (GALT)**
- 5 **Eliminazione di tossine o altre sostanze del lume intestinale (per es.: colesterolo → steroidi)**
- 6 **Regolazioni della proliferazione cellulare e di funzioni intestinali (produzione di muco, assorbimento dei nutrienti, mobilità, flusso ematico) tramite produzione di SCFA, enzimi, poliamine, NO**

ATTIVITA' METABOLICA TOSSICA

- I **GLUCURONIDI** (o **GLUCURONOSIDI**) sono molecole in cui è presente l'**ACIDO GLUCURONICO**, legato attraverso un legame glucosidico.
- La **GLUCURONIDAZIONE**, ovvero la conversione dei composti chimici a glucuronidi, è uno dei principali metodi attraverso cui gli animali riescono ad eliminare le sostanze tossiche (di origine ambientale, alimentare o farmacologica).

ATTIVITA' METABOLICA TOSSICA

- L'acido glucuronico, una volta legato al composto tossico, ne aumenta l'idrosolubilità, permettendone l'escrezione attraverso i reni.
- Gli enzimi che rompono il legame glicosidico dei glucuronidi sono dette GLUCURONIDASI.
- L'attività della β -GLUCURONIDASI è stata proposta come un biomarker del rischio di cancro

ATTIVITA' METABOLICA TOSSICA

- ◉ L'enzima **NITROREDUTTASI** è una flavoproteina responsabile della riduzione del gruppo funzionale nitro di molti composti ($R-NO_2$) alla corrispondente idrossilammina ($R-NHOH$).
- ◉ I composti finali (**AMMINE AROMATICHE**) e gli intermedi altamente reattivi (intermedi N-idrossilati) derivanti da queste reazioni sono mutageni e cancerogeni.

ATTIVITA' METABOLICA TOSSICA

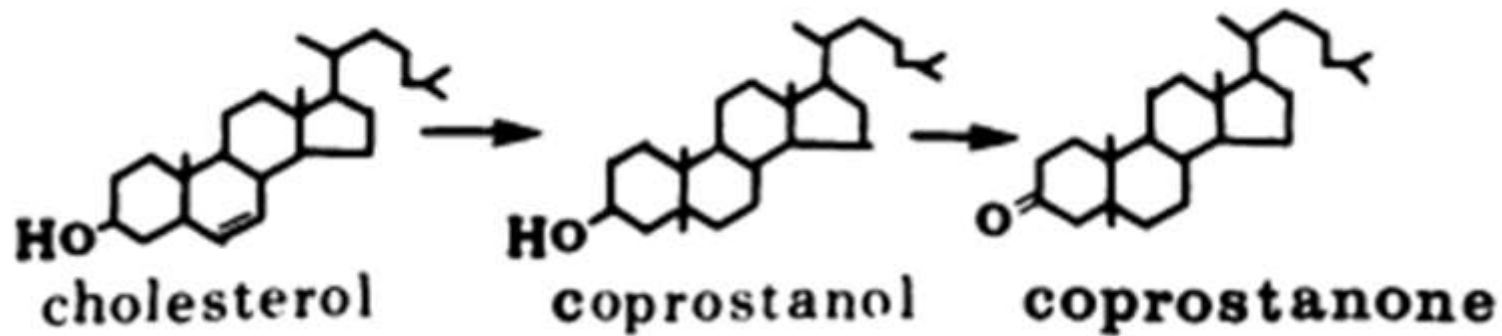
- La **AZOREDUTTASI** è un enzima in grado di ridurre le molecole azoiche, cioè che contengono gruppi AZO (-N=N-) producendo gruppi amminici.
- Questa attività è importante per la sua azione sui coloranti azici (per es. E154)

ATTIVITA' METABOLICA TOSSICA

- La 7- α -DEIDROSSILASI è un enzima che trasforma l'acido colico in acido deossicolico e l'acido chenodeossicolico in acido litocolico (poco solubile ed epatotossico).
- È stata ipotizzata un'attività cancerogena da parte degli acidi biliari secondari non coniugati

ATTIVITA' METABOLICA TOSSICA

- La **COLESTEROLO DEIDROGENASI** determina una riduzione del colesterolo, che porta alla formazione di molecole cancerogene quali il **COPROSTANONE**



I BATTERI LATTICI

- Sono batteri Gram POSITIVI, immobili, chemioeterotrofi a forma di bastoncino o cocco. Il loro nome deriva dal fatto che formano ACIDO LATTICO come principale (e talvolta unico) prodotto finale del loro metabolismo energetico.
- Sono **tutti anaerobi con metabolismo fermentativo ed hanno una variabile sensibilità all'ossigeno.**

I BATTERI LATTICI

- Sono incapaci di produrre ATP attraverso un metabolismo aerobio, a causa dell'incapacità di sintetizzare citocromi o altri enzimi contenenti il gruppo eme. A causa dell'impossibilità di produrre proteine eminiche, sono **CATALASI NEGATIVI** e quindi non possono operare la
- decomposizione dell' H_2O_2 in H_2O e O_2 .

- Una caratteristica propria dei batteri lattici è la loro elevata **ACIDO-RESISTENZA**, che consente loro di crescere fino a quando il pH raggiunge valori inferiori a 5. Questa caratteristica fisiologica è di grande importanza ecologica, perché permette loro di vincere la competizione di altri batteri in ambienti ricchi di materia organica. Come risultato della loro specializzazione fisiologica, i batteri lattici sono confinati in pochi e caratteristici ambienti naturali.

- Alcuni vivono in associazione con le piante e crescono a spese delle sostanze nutritive liberate in seguito alla morte e alla decomposizione dei tessuti vegetali; si trovano quindi in alimenti e bevande preparate con **materiale vegetale come sottaceti, crauti, foraggi insilati, vino e birra**. Altri fanno parte del normale **microbiota degli animali** (bocca, intestino, mucosa vaginale). Alcuni, infine, sono associati al **latte**

I BATTERI LATTICI

- ◉ Sulla base dei loro prodotti di fermentazione, sono divisi in tre sottogruppi
- ◉ metabolici
- ◉ 1 - OMOFERMENTANTI: degradano il glucosio via glicolisi e non sono in grado di utilizzare i pentosi. Il piruvato viene poi ridotto ad acido lattico, unico prodotto della loro fermentazione

I BATTERI LATTICI

- ◉ 2 - ETEROFERMENTANTI OBBLIGATI: non possono degradare il glucosio via glicolisi
- ◉ in quanto non possiedono l'enzima FRUTTOSIO 1,6 DIFOSFATO ALDOLASI che
- ◉ catalizza la scissione del fruttosio 1,6 difosfato in gliceraldeide-3-fosfato e
- ◉ diidrossi-acetone-fosfato. Per tale ragione essi fermentano il glucosio attraverso la
- ◉ via dei pentoso fosfati, ottenendo tre prodotti finali in rapporto equimolare: ACIDO
- ◉ LATTICO, ETANOLO e CO₂. Possono utilizzare anche i pentosi, nel qual caso senza
- ◉ produzione di CO₂. Possono produrre anche piccole quantità di acido acetico

I BATTERI LATTICI

- ◉ 3 - ETEROFERMENTANTI FACOLTATIVI: in presenza di ESOSI essi li fermentano
- ◉ attraverso la glicolisi con produzione di solo ACIDO LATTICO, comportandosi perciò
- ◉ come omofermentanti. In presenza di PENTOSI, effettuano l'ossidazione di tali
- ◉ composti attraverso la via dei pentoso fosfati, senza produzione di CO₂
- ◉ L'acido lattico prodotto può essere in configurazione L, D oppure in miscela
- ◉ racemica DL

I BIFIDOBATTERI

- ◉ I bifidobatteri più comunemente utilizzati come probiotici
- ◉ I ceppi di bifidobatteri più comunemente utilizzati nei prodotti probiotici appartengono alle seguenti specie:
 - ◉ *Bifidobacterium breve*, *B. bifidum*, *B. longum subsp. infantis*, *B. longum*
 - ◉ *subsp. longum*, *B. animalis subsp. lactis*
- ◉ Tutti i bifidobatteri di origine intestinale umana sono considerati potenziali probiotici

I BIFIDOBATTERI

- *Molto spesso, nei prodotti probiotici, non si fa distinzione tra le specie di bifidobatteri, tanto che in etichetta si fa riferimento generico ad essi e/o in modo non tassonomicamente appropriato, senza nessuna specificazione appropriata circa la specie di appartenenza (soprattutto in passato, si poteva infatti trovare indicato in etichetta ai prodotti:
“BIFIDI”, “LACTOBACILLUS BIFIDUS”,
“BIFIDUS”, “BIFIDO BATTERI”)*

I BIFIDOBATTERI

- I prodotti alimentari probiotici (soprattutto lattici fermentati) contenenti probiotici, tuttavia, nella quasi totalità dei casi **CONTENGONO CEPPI DELLA SPECIE *B. animalis subsp. lactis* ed in particolare il ceppo**
- **BB-12: IL BIFIDOBATTERIO PROBIOTICO PER ECCELLENZA IN EUROPA!**
- *NON è di origine umana!!!!*
- *B. animalis subsp. lactis è così diffusamente utilizzato nei prodotti alimentari poiché esso tollera l'ossigeno e l'acidità molto meglio degli altri bifidobatteri (è presente anche in Italia in moltissimi prodotti alimentari, soprattutto caseari, ma non solo)*

PROBIOTICI

- **Supplementi orali di microrganismi vitali che migliorando l'equilibrio tra le diverse specie batteriche intestinali hanno effetti positivi sulla salute.**

Fuller 1992

- **Microorganismi che assunti in quantità adeguate hanno effetti positivi sulla salute oltre a quelli nutrizionali**

ESSENDO UNA CAVITÀ QUASI PRIVA DI OSSIGENO L'INTESTINO RAPPRESENTA UNA NICCHIA ECOLOGICA MOLTO PARTICOLARE

- ◉ Assenza di luce
- ◉ Quasi assenza di ossigeno
- ◉ Diverse condizioni di ph
- ◉ Presenza di acqua, sali minerali, nutrienti
- ◉ Condizioni favorevoli per la crescita di microrganismi anaerobi

Proteine mal digerite subiscono decarbossilazione
amminoacidica che genera amine tossiche:

Istidina _____ istamina

Tirosina _____ tiramina

Lisina _____ cadaverina

Ornitina _____ putrescina

Arginina _____ agmatina

Cistina e cisteina _____ mercaptano

Triptofano _____ indolo e scatolo

- La destrutturazione delle giunzioni serrate, da cui passa circa il 70% dell'assorbito, modifica sia la reattività immunitaria sia la qualità dei prodotti assorbiti (prodotti ad idrolisi incompleta).
- La presenza sulle cellule enterocitarie o in vicinanza di INF- γ e/o di IL-4 abbassa l'impedenza cellulare, che passa da un valore di 1000 Ω a quasi 0 .

IL DANNO MAGGIORE

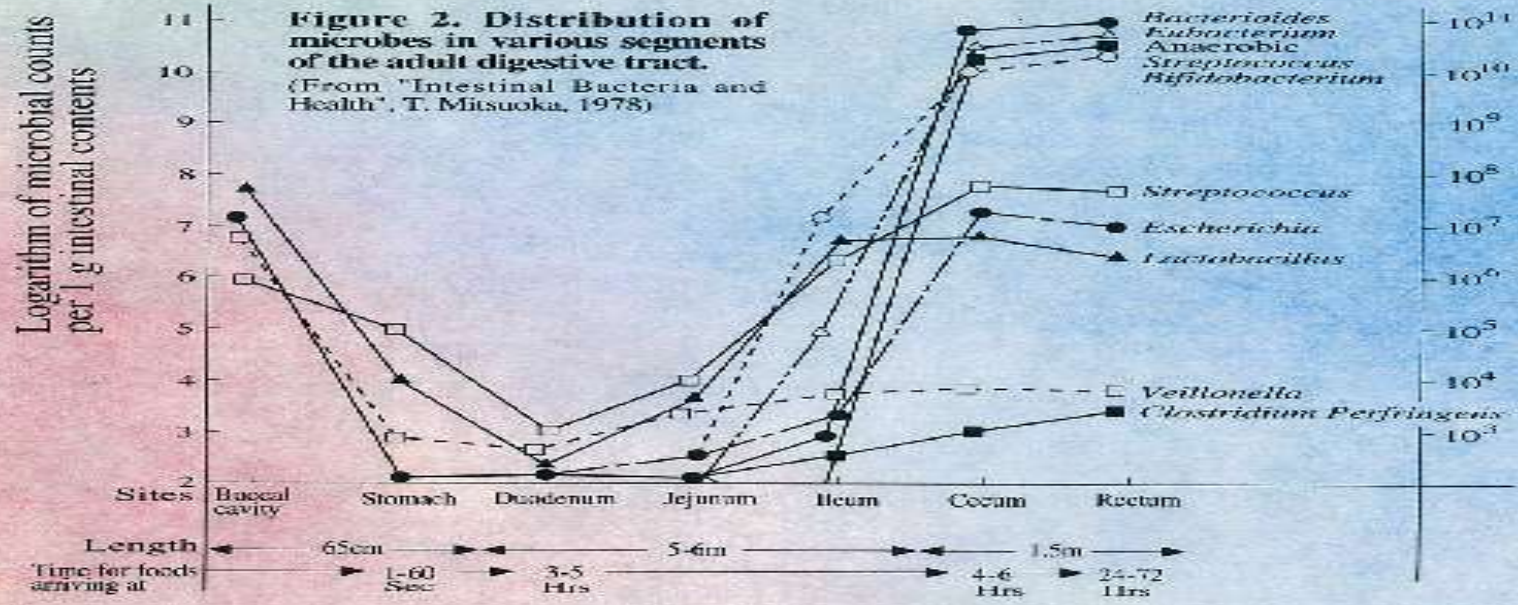
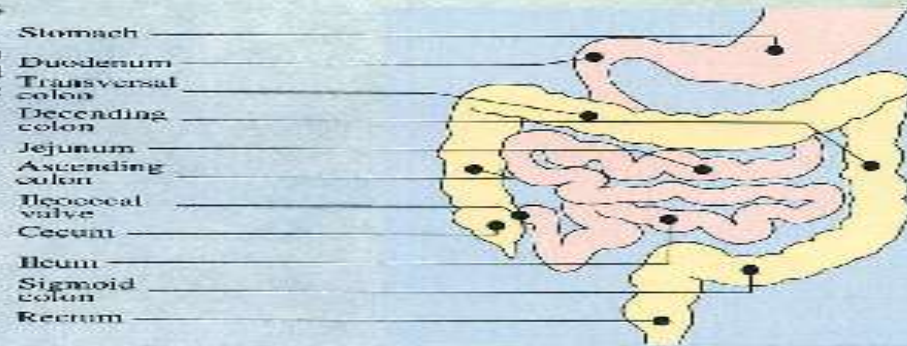
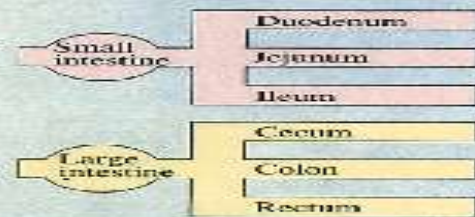
Disordini intestinali possono generare patologie lontane dall'intestino e/o dal colon:

- Denti
- Infezioni ORL
- Cefalee
- Dermatiti
- Cistiti
- Stanchezza
- Nervosismo e irritabilità

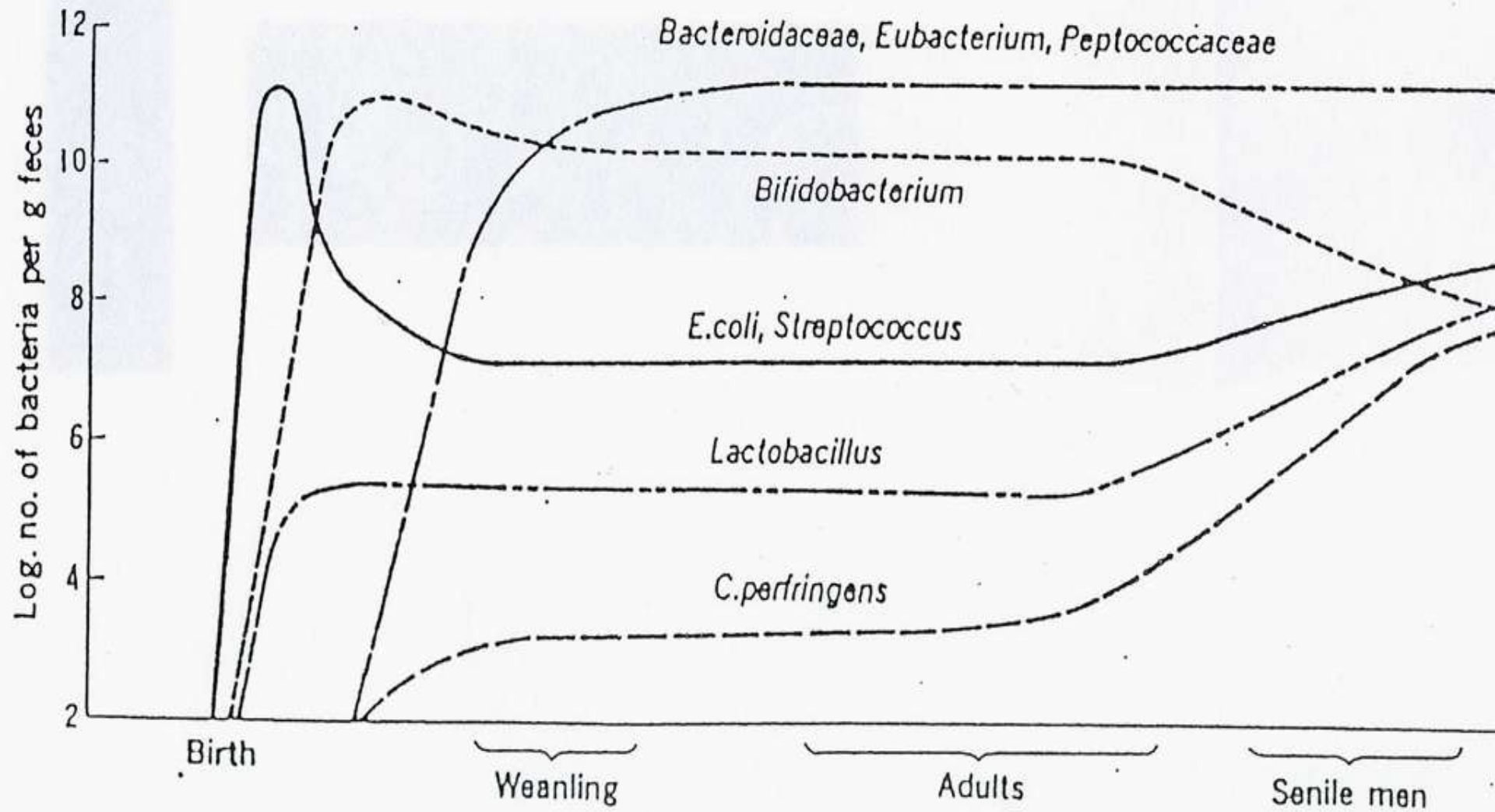
La creazione di una tossiemia intestinale diventa fonte di auto intossicazione organica con conseguente avvelenamento di sangue e linfa

Figure 1. Designation of various segments of the digestive tract.

From the buccal cavity which is in contact with the atmosphere toward the lower end (rectum), anaerobic conditions improve step by step.



I BATTERI DENTRO DI NOI A SECONDO DELLE ETA'



Succession of intestinal flora with age. (Mitsuoka)

CHI COMANDA?

- Tavola 1 - Flora fecale dell'uomo adulto

FLORA	GENERE O SPECIE	MICRORGANISMI/G
Dominante 98,82%	* Anaerobi stretti	
	<i>Batteroidi</i>	$10^9 - 10^{10}$
	<i>Bifidobatteri</i>	$10^8 - 10^9$
	<i>Altri Clostridium</i>	$10^8 - 10^9$
	<i>Eubatteri</i>	$10^8 - 10^9$
	<i>Peptostreptococchi</i>	$10^8 - 10^9$
	<i>Endospore</i>	$10^8 - 10^9$
	<i>Plectridii</i>	$10^8 - 10^9$
	* Anaerobi facoltativi	
	<i>Lactobacilli</i>	$10^8 - 10^9$
Sottodominante 1,16%	* Aerobi	
	<i>Escherichia coli</i>	$10^7 - 10^8$
	<i>Enterococco (streptococco D)</i>	$10^7 - 10^8$
Fluttuante (opportunisti e patogeni) 0,02%	* Bacilli Gram -	
	<i>Citrobacter - Levinea</i>	$10^4 - 10^5$
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$10^4 - 10^5$
	<i>Enterobacter cloacae</i>	$10^4 - 10^5$
	<i>Proteus - Providencia</i>	$10^2 - 10^3$
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$10^2 - 10^3$
	<i>Aeromonas</i>	$10^2 - 10^3$
	Proteobatteri ($\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon$)	-
	* Bacilli Gram +	
	<i>Clostridium</i>	$10^5 - 10^6$
<i>Staphylococcus</i>	$10^5 - 10^6$	
<i>Bacillus</i>	$10^4 - 10^5$	
Sarcina	-	
* Lieviti	$10^2 - 10^3$	
* Funghi	$10^2 - 10^3$	

Ecologia microbica del tubo digerente

- Attualità Scientifiche de l'INRA - Ed. Masson, Paris 1979 -

WORKSHOP DELLA YALE UNIVERSITY 11-2005

Journal of Clinical Gastroenterology 2006
Trial clinici ed evidenze per un utilizzo corretto dei
probiotici. Edit 2006

CURRENT RESEARCH ON HEALTH BENEFITS OF PROBIOTIC STRAINS AND BLENDS

★: Strain or blend is recommended by the 2005 Yale University workshop (see page 237)

+ : Strain has shown a positive response in human or animal studies

Genus	Species	Strain	General Health	GI Health	Inflammatory Bowel Disease	Irritable Bowel Syndrome	Viral Diarrhea	Antibiotic-assoc Diarrhea	<i>C difficile</i> Diarrhea	Travelers' Diarrhea	Vaginal Yeast	Urinary Tract Infection	Eczema	Colds & Resp Virus	Allergy	Autoimmunity
Category 1: Significant number of clinical and research studies																
Bifidobacterium	animalis	DN-173 010, (1)	+	+												
Bifidobacterium	lactis	Bb-12	+	+			+						+			
Bifidobacterium	lactis	HNO19, DR10	+	+			+									
Lactobacillus	acidophilus	NCFM	+	+		+	+									
Lactobacillus	casei	DN-114 001, (2)	+	+			+							+		
Lactobacillus	casei	Shirota	+	+	+			+							+	+
Lactobacillus	fermentum	RC-14	+								+	+				
Lactobacillus	plantarum	299v	+	+	+	+				+						
Lactobacillus	reuteri	SD2112, ING1, MM53, ATCC 55730, (3)	+	+			+							+		
Lactobacillus	rhamnosus	GG, LGG, (4)	+	+	+	+	★	★	+	+			+			+
Lactobacillus	rhamnosus	GR-1	+								+	+				
Lactobacillus	rhamnosus	HN001, DR20	+	+												
Saccharomyces	boulardii	lyo	+	+	+	+	★	★	★	+						
VSL#3, a blend of lactic acid bacteria (5)					★	★										

Genus	Species	Strain	General Health	GI Health	Inflammatory Bowel Disease	Irritable Bowel Syndrome	Viral Diarrhea	Antibiotic-assoc Diarrhea	<i>C difficile</i> Diarrhea	Travelers' Diarrhea	Vaginal Yeast	Urinary Tract Infection	Eczema	Colds & Resp Virus	Allergy	Autoimmunity
Category 2: Very promising clinical and research studies																
Bifidobacterium	breve	BR03, BR 03	+			+										
Bifidobacterium	breve	C50	+					+								
Bifidobacterium	breve	Yakult, BBG	+													
Bifidobacterium	breve	YIT4064	+					+								
Bifidobacterium	infantis	35624	+		+	+										
Bifidobacterium	longum	BB536, BB356	+	+												+
Lactobacillus	acidophilus	DDS-1	+	+												
Lactobacillus	acidophilus	LA02, LA 02	+			+										
Lactobacillus	acidophilus	R0052, Rosell-52	+	+												
Lactobacillus	acidophilus	T20	+	+												
Lactobacillus	fermentum	B-54	+								+	+				
Lactobacillus	johnsonii	La1, NCC533, (6)	+	+												
Lactobacillus	paracasei	F19, (7)	+					+								
Lactobacillus	plantarum	LP01, LP 01	+			+										
Lactobacillus	reuteri	DSM 122460	+					+					+			
Lactobacillus	rhamnosus	19070-2	+					+					+			
Lactobacillus	rhamnosus	R0011, Rosell-11	+	+												
Lactobacillus	salivarius	UCC118	+	+	+											
Lactobacillus	salivarius	433118	+		+											

Genus	Species	Strain	General Health	GI Health	Inflammatory Bowel Disease	Irritable Bowel Syndrome	Viral Diarrhea	Antibiotic-assoc Diarrhea	<i>C. difficile</i> Diarrhea	Travelers' Diarrhea	Vaginal Yeast	Urinary Tract Infection	Eczema	Colds & Resp Virus	Allergy	Autoimmunity
Category 3: Some published studies, either clinical or research																
Bifidobacterium	breve	BB99														
Bifidobacterium	longum	SBT-2928														
Lactobacillus	acidophilus	1748, NCFB 1748														
Lactobacillus	acidophilus	LA-1, LA-5														
Lactobacillus	acidophilus	SBT-2062														
Lactobacillus	crispatus	CTV05														
Lactobacillus	paracasei	33, LP33														
Lactobacillus	paracasei	CRL 431														
Lactobacillus	paracasei	ST11														
Lactobacillus	reuteri	CRL 1098														
Lactobacillus	rhamnosus	271														
Lactobacillus	rhamnosus	573L/1; 573L/2; 573L/3 (8)														

Probiotics and their trade names.

(1) *Bifidobacterium animalis* DN-173 010: Bifidus Regularis

(2) *Lactobacillus casei* DN-114 001: *L. casei* Defensis or *L. casei* Immunitas

(3) *Lactobacillus reuteri* SD2112 / 55730: *L. reuteri* Protectus, Reuteri™

(4) *Lactobacillus rhamnosus* GG: *Lactobacillus* GG or LGG

(5) VSL#3 is a probiotic blend containing strains of *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, and *Streptococcus thermophilus* that are currently not identified by the manufacturer. Please refer to page 241 for more information about its status as a "medical food."

(6) *Lactobacillus johnsonii* La1: NCC533 or LC1

(7) *Lactobacillus paracasei* F19: *Lactobacillus* F19

(8) The mixture of *Lactobacillus rhamnosus* 573L/1, 573L/2, and 573L/3 is marketed as Lacid I

- ◉ La lista è esemplificativa, ma non esaustiva.
- ◉ Moltissimi altri ceppi hanno identiche o superiori qualità e non sono inseriti in tabella per ragioni di protezione industriale.

LA LISTA E' COMPLETA? NO!

- Oltre a questi dati si sono accumulate evidenze che i probiotici hanno attività benefiche nel trattamento:
- infezione da *Helicobacter Pylori*
- diarrea da radiazioni e/o antibiotici
- infezioni vaginali e urinarie
- colite ulcerosa
- nella pouchite
- malattia di Crohn
- **Sindrome dell'intestino irritabile.**

EFFETTI DEL MICROBIOTA SULLE CELLULE INTESTINALI

	GAC (animali germ-free)	MAC (ex germ-free riconvenzionalizzati)
Epitelio intestinale	Sottile	Ispessito
Cinetica degli enterociti	Lenta	Veloce
Metabolismo acidi biliari	Deconiugazione significativa	Deconiugazione assente
Metabolismo Colesterolo	Assenza di coprostanolo	Presenza di coprostanolo
Produzione SCFA	Produzione ridotta	Produzione rilevante
Attività immunologica	Ridotta	Presente

DIFFERENZA DI AZIONE PROBIOTICA FRA CEPPI DELLA STESSA SPECIE

Specie/ceppo	Azione riscontrata	Referenza
Bifidobacterium longum W11	Bassa induzione di IL10 e alta induzione di Th1	Medina et al., 2007
Bifidobacterium longum NCIMB 8809 e Bifidobacterium longum BIF53	Alta induzione di IL10 bassa induzione di Th1	
Lactobacillus rhamnosus GG e Lactobacillus rhamnosus 1970-2	Differenza nella capacità di colonizzazione in vivo	Jacobsen et al., 1999
Lactobacillus crispatus M247 e Lactobacillus crispatus MU5	Differenza nella capacità di colonizzazione in vivo	Cesena et al., 2001

MODULAZIONE DA PARTE DEI PROBIOTICI DEI SISTEMI DI SEGNALAZIONE NELLE CELLULE EPITELIALI INTESTINALI (CEI) E NEI MACROFAGI

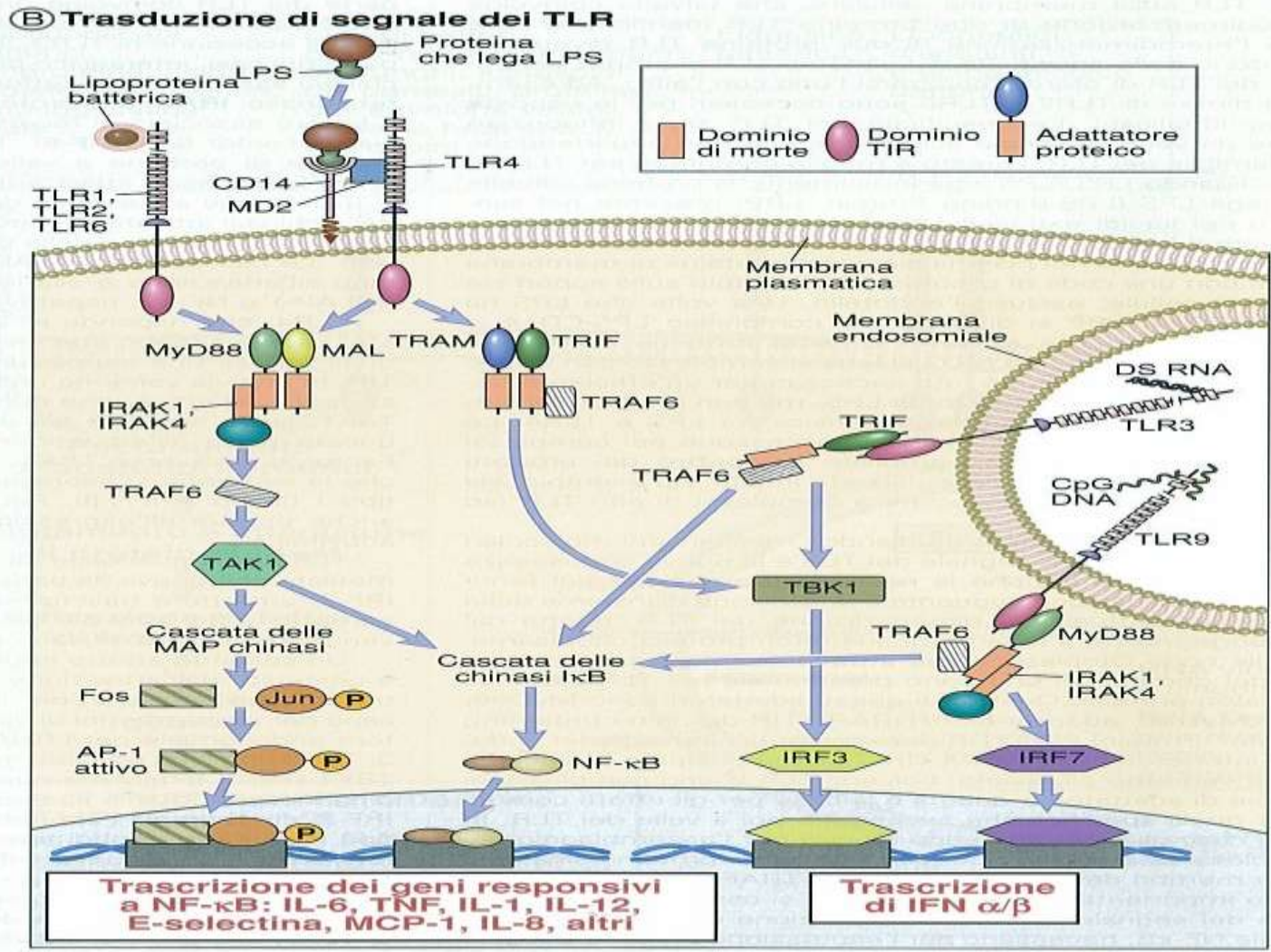
Probiotico	Modello	Via Segnalazione	Effetto	Referenza
<i>Bacillus subtilis</i> JH642	CEI	hsp	Induce hsp27, hsp25 hsp70	Fujiya et al., 2007
<i>Bacillus subtilis</i> JH642	CEI	MAPK	> fosforilazione p38	Fujiya et al., 2007
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29184	CEI	MAPK	Attivazione ERK1/2, p38	Resta-Lenert et al., 2006
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	CEI	NF κ B	Aumenta esportazione RelA via PPAR γ	Kelly et al., 2004
<i>Bacteroides vulgatus</i>	CEI	NF κ B	> fosforilazione I κ B α	Haller et al., 2002
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC 15703	Macrofagi	NF κ B	< fosforilazione I κ B α ; incrementa SOCS	Okada et al., 2009
<i>Bifidobacterium bifidum</i> B536	Macrofagi	NF κ B	< legame LPS CD14	Menard et al., 2004
<i>Bifidobacterium breve</i> BbC50	Macrofagi	NF κ B	< legame LPS CD14	Menard et al., 2004
<i>Bifidobacterium lactis</i> BB12	CEI	NF κ B	Attiva RelA	Ruiz et al., 2005
<i>Bifidobacterium lactis</i> BB12	CEI	MAPK	> fosforilazione p38	Ruiz et al., 2005
<i>Bifidobacterium longum</i>	CEI	NF κ B	< trans locazione p65	Bai et al., 2004; Bai et al., 2006
<i>Enterococcus faecalis</i> EC1/ EC3/EC15/ EC16	CEI	PPAR γ	Induce fosforilazione PPAR γ 1	Are et al., 2008
<i>Escherichia coli</i> M17	Macrofagi	NF κ B	Inibisce legame	Fitzpatrick et al.,

<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> DSM 17677	CEI	NF κ B	Inibisce attivazione NF κ B	Sokol et al., 2008
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	CEI	MAPK	Attivazione ERK1/2 e p38	Resta-Lenert et al., 2006
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	CEI	NF κ B	< fosforilazione I κ B α	Resta-Lenert et al., 2006
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	CEI	NF κ B	< translocazione p65	Bai et al., 2004
<i>Lactobacillus casei</i> DN-114 001	CEI	NF κ B	Previene degradaz. I κ B α	Tien et al., 2005
<i>Lactobacillus casei</i>	CEI	PPAR γ	> PPAR γ mRNA	Eun et al., 2007
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Macrofagi	NF κ B	Inibisce fosforil. I κ B α	Watanabe et al., 2009
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Macrofagi	MAPK	Inibisce fosforil. ERK1/2	Watanabe et al., 2009
<i>Lactobacillus casei</i> YIT 9029	Macrofagi	NF κ B	Attivazione NF κ B	Matsuguchi et al., 2003
<i>Lactobacillus crispatus</i> M247	CEI	PPAR γ	> attività transcriptzionale	Voltan et al., 2008
<i>Lactobacillus crispatus</i>	Macrofagi	NF κ B	attivazione NF κ B	Klebanoff et al., 1999
<i>Lactobacillus fermentum</i> DSMZ 20052	CEI	NF κ B	Blocca attivazione NF κ B	Frick et al., 2007
<i>Lactobacillus fermentum</i> DSMZ 20052	CEI	MAPK	< attivazione p38	Frick et al., 2007

<i>Lactobacillus fermentum</i> YIT 0159	Macrofagi	NF κ B	Attivazione NF κ B	Matsuguchi et al., 2003
Probiotico	Modello	Via Segnalazione	Effetto	Referenza
<i>Lactobacillus fermentum</i> YIT 0159	Macrofagi	MAPK	Attivazione JNK	Matsuguchi et al., 2003
<i>Lactobacillus plantarum</i>	CEI	NF κ B	Inibisce proteosoma	Petrof et al., 2009
<i>Lactobacillus plantarum</i> K8	Macrofagi	NF κ B	Inibisce degradaz. I κ B α	Kim et al., 2008
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Macrofagi	MAPK	< p38, JNK	Kim et al., 2008
<i>Lactobacillus reuteri</i>	CEI	NF κ B	Previene degradaz. I κ B α	Ma et al., 2004
<i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC PTA 6475	Macrofagi	apoptosi	Sopprime Bcl-2 e Bcl-x $_L$	Iyer et al., 2008
<i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC PTA 6475	Macrofagi	NF κ B	< ubiquitizz. I κ B α	Iyer et al., 2008
<i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC PTA 6475	Macrofagi	MAPK	Incrementa JNK e fosforilazione p38	Iyer et al., 2008
<i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC PTA 6475	Macrofagi	MAPKs	< fosforilazione ERK1/2	Iyer et al., 2008
<i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC PTA 6475	Macrofagi	AP-1	< fosforilazione c-Jun	Lin et al., 2008
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG ATCC 53103	CEI	hsp	Induce hsp25 e hsp72, heat shock TF1	Tao et al., 2006
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG ATCC 53103	CEI	MAPKs	Incrementa fosforilazione p38 e JNK	Tao et al., 2006
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG ATCC 53103	CEI	NF κ B	Previene ubiquitizzazione e degrad. I κ B α	Kumar, 2007 Lin et al., 2009

<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG ATCC 53103	CEI	MAPK	Up-regolazione di geni-f MAPK relati	Di Caro, 2005; Lin, 2008
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG ATCC 53103	CEI	apoptosi	Attiva Akt/PI3K	Yan, 2002 Yan, 2007
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG ATCC 53103	Macrofagi	NFκB	Induce attività NFκB	Miettinen et al., 2000
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> Lcr	Macrofagi	apoptosi	> Bax pro-apoptotica, libera citocromo-c, attiva caspasi-9 & 3	Chiu, 2009
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GR-1	Macrofagi	MAPKs	Attiva JAK2-STAT3 ad inibire attivaz. JNK	Kim, 2006
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> FRE1	Macrofagi	NFκB	< legame di LPS a CD14	Menard, 2004
" <i>Saccharomyces boulardii</i> "	CEI	apoptosi	Previene attiv. di caspasi-3	Czerucka, 2000
" <i>Saccharomyces boulardii</i> "	Macrofagi	NFκB	Previene degradaz. IκBα	Sougioultzis, 2006
<i>Salmonella typhimurium</i> PhoP	CEI	NFκB	Inibisce ubiquitizz. IκBα	Neish, 2000
<i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 19258	CEI	MAPK	Attivazione di ERK1/2 e p38	Resta-Lenert, 2006
<i>Streptococcus thermophilus</i> St065	Macrofagi	NFκB	< legame di LPS a CD14	Menard, 2004

COME AVVIENE QUESTA REGOLAZIONE?



MICROBIOTA E SINDROME METABOLICA

PERCENTUALI EUBIOTICHE

- La distribuzione percentuale nell'adulto della flora batterica intestinale è, con piccole variazioni:
- 67% batteroides propionbacter e firmicutes.
- 15% bifidobatteri (antigenotossici primari)
- 2% lattobacilli
- 5% escherichie e enterococchi
- 13% clostridi, proteus, klebsielle.....
- Nel lattante i probiotici sono solo i bifidobatteri.

- Una ecologia mutualistica tra flora intestinale e ospite deve essere considerata come un nuovo attore della fisiologia e della fisiopatologia umana.
- Il microbiota può essere modificato con degli interventi farmacologici o dietetici che possono controllare la fisiologia umana e i mal funzionamenti di vari organi.

BATTERI E DIGESTIONE

- ⊙ I batteri contribuiscono alla degradazione delle proteine, producono per se sostanze azotate ed interferiscono con l'assorbimento degli aminoacidi.

BATTERI E DIGESTIONE

- ⊙ I batteri producono sostanze “benzodiazepino-simili ad azione neuromodulatrice provenienti dalla degradazione intestinale degli alimenti.

BATTERI E INTESTINO

- I batteri producono sostanze solforate e indoliche come fenoli, trimetilamina, mercaptani, che immessi nel sistema portale devono essere smaltite dal fegato per evitare danni dalla loro tossicità a livello del SNC.

BATTERI E INTESTINO

- La flora batterica intestinale produce endotossine, che sono uno degli stimoli principali alla produzione di ossido nitrico (NO) e alla attivazione delle cellule del Kupffer. Tali meccanismi possono a loro volta attivare i sistemi di detossificazione dell'epatocita, quali ad esempio le alfa-glutatione-s-transferasi.

BATTERI E INTESTINO

- ⦿ L'endotossina aumentata a causa di una eccessiva produzione batterica, attraverso una stimolazione continua dell'endotelio vascolare a livello splancnico, aumenta la produzione di ossido nitrico (NO) contribuendo alla modulazione dell'entità dell'ipertensione portale.

GENI, INTESTINO E IMMUNITÀ

- ◆ Insieme con la crescente incidenza mondiale di malattie associate all'obesità, la ricerca ha recentemente svelato importanti vie di collegamento reciproco tra metabolismo, microbiota e sistema immune.
- ◆ La flora intestinale è sempre più riconosciuta come un fattore importante di collegamento tra geni (umani e batterici), ambiente e sistema immunitario.

INCRETINE GLP-1, GLP-2, PYY

- ◆ Si è notato come la microflora sia in grado di interagire con le incretine.
- ◆ Questi ormoni sono di estrema importanza:
- ◆ 1) Nella gestione del transito intestinale e nello svuotamento gastrico (GLP-1, PYY).
- ◆ 2) Nella funzione di vedetta degli zuccheri per modulare la liberazione di insulina (GLP-1).
- ◆ 3) Nella funzione di modulatore dell'integrità di barriera (GLP-2).

EFFETTO INCRETINICO

- ◆ È la fisiologica risposta insulinica ad un carico di glucosio per os. che è maggiore rispetto alla somministrazione di glucosio in vena.
- ◆ Per ottenere l'effetto, si hanno una serie di modificazioni dentro la β -cellula pancreatica:
 - ◆ 1) si bloccano i canali del Potassio (aumento della differenza di potenziale)
 - ◆ 2) apertura dei canali del calcio e degranulazione dei granuli di insulina.
 - ◆ 3) effetto trofico sulle β cellule con loro moltiplicazione

GLP-1

- ◆ Il GLP-1 non sprema le β -cellule come limoni, ma è un ormone intelligente che reca un segnale trofico per le β cellule (vita media di 2 min).
- ◆ Il GLP-1 agisce a vari livelli:
- ◆ 1) pre-avverte la cellula β del pancreas(+ insulina)
- ◆ 2) pre-avverte la cellula α del pancreas(- glucagone)
- ◆ 3) rallenta lo svuotamento gastrico (transito graduale dei carboidrati)
- ◆ 4) agisce sul centro cerebrale della sazietà

GLP-2

- Il GLP-2 è un ormone, secreto insieme al GLP-1, dalle cellule L della mucosa intestinale, con la funzione di modulare l'integrità della barriera intestinale e di ridurre la endotoxiemia.
- Il mantenimento di una corretta funzione delle giunzioni serrate intercellulari è essenziale per una corretta funzione di barriera dell'epitelio intestinale

PYY

- Il **Peptide YY (PYY)** è un ormone prodotto nelle cellule L della mucosa intestinale. Presenta grande omologia di struttura e funzione con il **Peptide Pancreatico (PP)**.
- Esso inibisce le contrazioni intestinali, le secrezioni pancreatiche e gastriche e riduce l'appetito.

GPR41 E GPR43

- ◆ I batteri probiotici sono in grado di produrre notevoli quantità di acetato, propionato e butirrato che, a parte le altre funzioni, sono in grado di legare dei G-recettori accoppiati alla proteina Gpr41 e 43.
- ◆ Recettore e proteina accoppiati, stimola la secrezione di PYY, che inibisce la motilità intestinale e rallenta il transito intestinale migliorando l'assorbimento dei nutrienti.

- ◆ Molti esperimenti hanno dimostrato che la flora intestinale può modulare entrambi i lati dell'equazione del bilancio energetico, cioè:
 - ◆ 1) raccogliere e immagazzinare come trigliceride l'energia dalla dieta.
 - ◆ 2) spendere energia attraverso l'ossidazione degli ac. Grassi
- ◆ Queste funzioni possono mediare l'obesità indotta dalla dieta, IR e diabete.

COME FANNO I BATTERI A SVOLGERE QUESTA MODULAZIONE?

- 1) L'intestino degli obesi è impoverito di geni coinvolti nella motilità e arricchito di idrolasi glicosidiche (Phosphotransferasi, β -fructosidasi, ecc..) in grado di degradare alimenti polisaccaridici non digeribili, in composti assimilabili.

FLORA INTESTINALE E COLINA

- 2) La flora intestinale, in una dieta ricca di grassi, può convertire la colina in metilammine, che sono epatotossiche (steatosi epatica, IR, lipoperossidazione), riducendo la biodisponibilità di colina, che è necessaria per l'assemblaggio e la secrezione di VLDL.


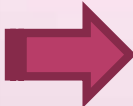
FLORA INTESTINALE E GRASSI

- 3) La flora batterica può inoltre modificare il metabolismo lipidico sistemico attraverso la modificazione dei modelli di coniugazione degli ac. Biliari, che hanno un impatto diretto sulle emulsioni e indiretto sul deposito di grasso epatico e lipoperossidazione.

- ◆ La dieta occidentale, ricca in carboidrati e grassi, ha aumentato la relativa abbondanza di Firmicutes a causa della fioritura di Mollicutes a scapito dei Batteroidi, inducendo un arricchimento nei geni che permettono la produzione di sostanze energetiche (non di consumo!).
- ◆ Invertendo la dieta si sono totalmente invertiti i metabolismi!

- Uno studio su 154 persone tra cui gemelli omozigoti e dizigoti, ha mostrato che l'obesità era associata ad una marcata riduzione della diversità batterica, con un impoverimento relativo di Batteroidi e un proporzionale aumento di Actinobatteri negli obesi rispetto ai magri.

MICROBIOTA, OBESITÀ E INFIAMMAZIONE CRONICA

- Le vie metaboliche sono funzionalmente integrate con le risposte immunitarie e la rilevanza del S.I. innato nelle patogenesi delle malattie metaboliche è sempre più riconosciuta.
- Dieta ricca di grassi
cellule del Kupffer epatica.   attivazione delle
IR e steatosi

- ◆ Con una dieta ricca di carboidrati e grassi si ha una riduzione di Bifidobatteri e Eubatteri e una triplicazione di LPS (endotossina metabolica) che a sua volta è correlata all'espressione di TNF- α e IL-6 che a loro volta attivano i TLR-4, presenti sugli enterociti, e inducono l'espressione di NFkB.
- ◆ La American Heart Association ha rilevato come una dieta ricca di fibre e frutta annulli questi aumenti.

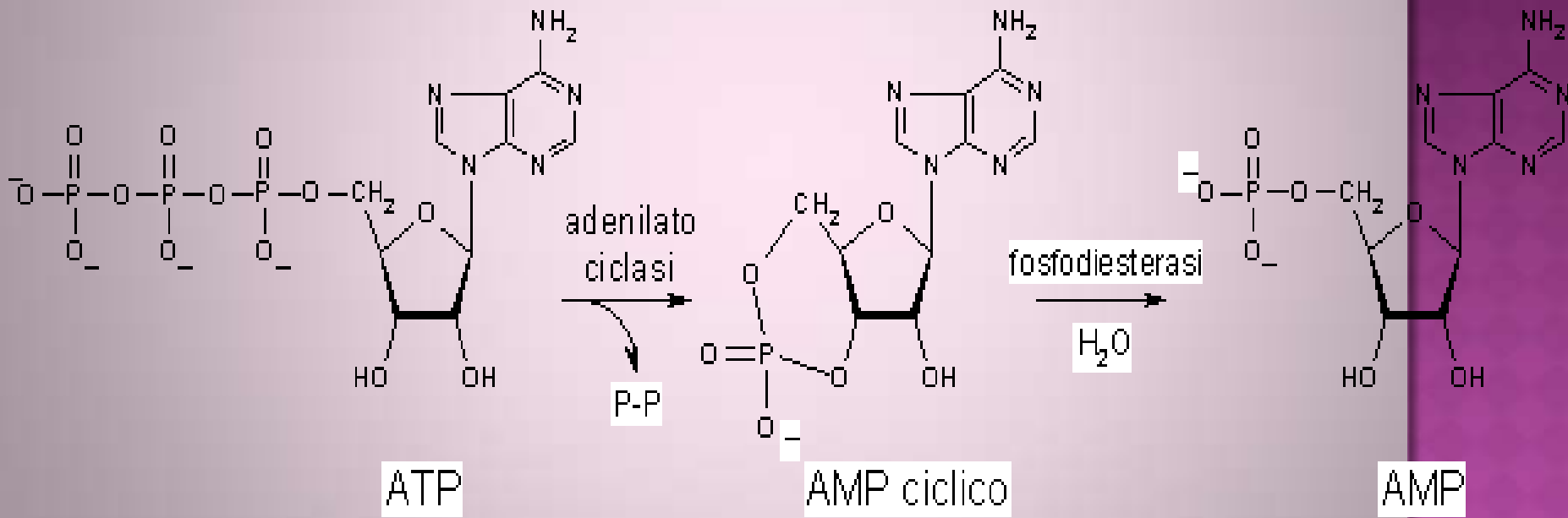
- L'alimentazione ricca di grassi e carboidrati riduce l'espressione di proteine epiteliali della tight junction come le occludine e la ZO-1, con conseguente aumento della permeabilità intestinale e dei livelli di LPS nel sangue attraverso l'assorbimento portale.

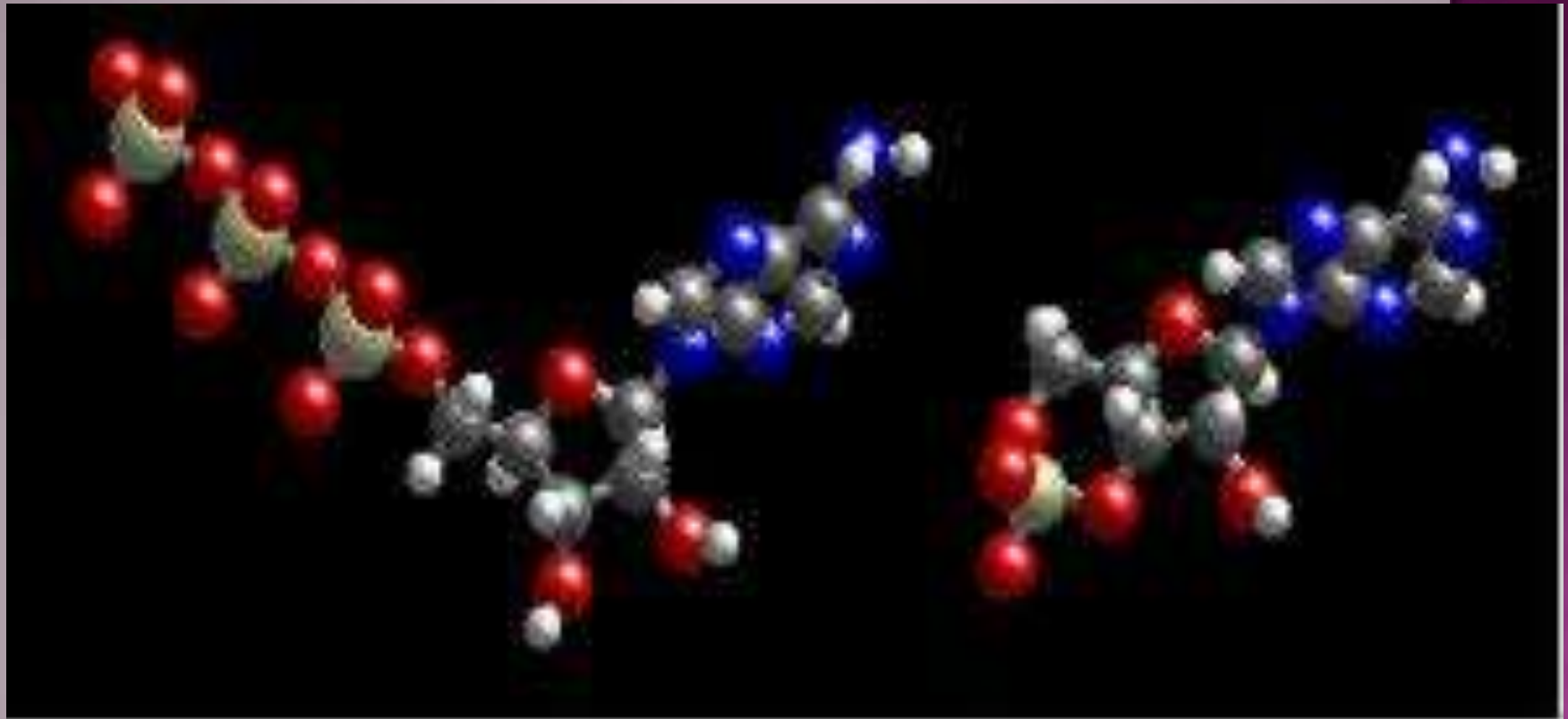
FUNZIONE DEGLI ACIDI GRASSI A CATENA CORTA

- I SCFA (small chain fatty acid) sono il nutriente, il carburante delle cellule.
- L'acido propionico aumenta la produzione di Adenilato ciclasi che induce l'aumento di cAMP che a sua volta attiva la PKA (protein chinasi A) che è l'enzima di base per la respirazione cellulare.

FUNZIONI DELL'cAMP

- ◆ L'AMP ciclico è un secondo messaggero che ha molteplici funzioni all'interno della cellula.
- ◆ E' prodotto dall'attivazione di Adenilciclasi, un enzima transmembranico che induce la trasformazione di ATP in cAMP.
- ◆ Il passaggio per idrolisi da 3'-5'-AMP ciclico a 5'-adenosin mono fosfato ad opera di una fosfo-diesterasi endocellulare, è inibito dalle metilxantine





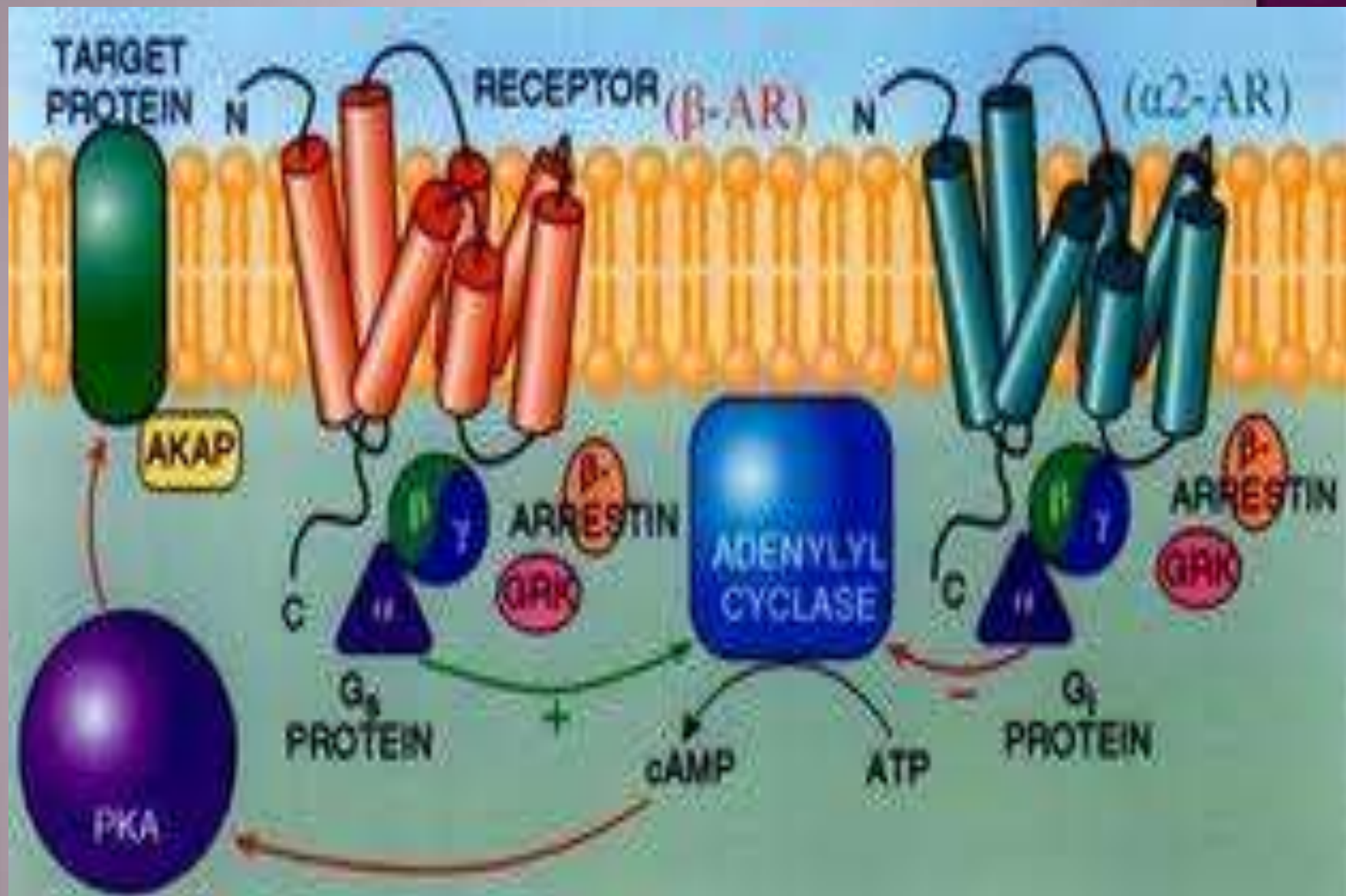
ATP

adenyl cyclase



PP_i

cAMP



DOVE SI TROVA LA PKA?

- ⊙ E' una proteina ubiquitaria, ma molto rappresentata nel tessuto muscolare, nervoso, epatico e endocrino.
- ⊙ E' composta da quattro subunità, due di regolazione e due enzimatiche.
- ⊙ 4 cAMP, 2 per ogni subunità, attivano l'enzima che produce la fosforilazione di altri enzimi.
- ⊙

COSA ATTIVA LA PKA

- ◆ Glicogeno fosforilasi
- ◆ Fosforilasi chinasi
- ◆ Piruvato chinasi
- ◆ Citocromossidasi
- ◆ Fosfofruttochinasi
- ◆ Piruvato deidrogenasi
- ◆ Questi sono alcuni degli enzimi della respirazione cellulare per mobilizzazione del glicogeno epatico

COSA ATTIVA LA PKA

- ◆ La PKA attiva anche molti ormoni.
- ◆ Il glucagone usa la via cAMP-PKA per scindere i trigliceridi negli adipociti.
- ◆ L'ACTH fosforila e attiva alcuni ormoni surrenalici come la colesterolo-27-desmolasi.
- ◆ La PKA attiva anche il trasportatore del colesterolo (PBR) che facilita l'importo di questo composto nei mitocondri per poter essere modificato.

ACIDO ISOBUTIRRICO

- L'acido isobutirrico, una volta entrato nella cellula ne attiva il metabolismo (mitocondri, PKA, ciclo di krebs per induzione diretta), ma se la cellula non è in grado di rispondere, perche “vecchia” o lesionata, l'acido isobutirrico (induzione apoptosica del mitocondrio, per attivazione delle caspasi e del gene P66) attiva il gene P53 che è alla base del processo apoptosico

ACIDO ISOBUTIRRICO

- La funzione dell'acido isobutirrico è quindi quella di proteggere le cellule enterocitarie, colocitiche e non solo da un invecchiamento non controllato. (prevenzione primaria antidegenerativa)

ACIDO ISOBUTIRRICO

- L'acido isobutirrico ha anche la funzione di destrutturare la membrana di protezione che avvolge la Candida ssp permettendo ai batteri di ucciderla.
- Questa funzione si esplica in modo ottimale quando la Candida non è radicolata, ma libera sia come blastospora che come conidospora.

OBESITÀ E BAMBINI

- In studi prospettici su bambini si è notato che soggetti in sovrappeso da 7 anni avevano livelli di più bassi di Bifidobatteri e più alti di Staphylococcus Aureus durante il 1° anno di vita.
- Un altro studio ha scoperto che la risposta degli adolescenti sovrappeso ad una perdita di peso con dieta e attività fisica era dipendente dal Microbiota iniziale (prima del trattamento)

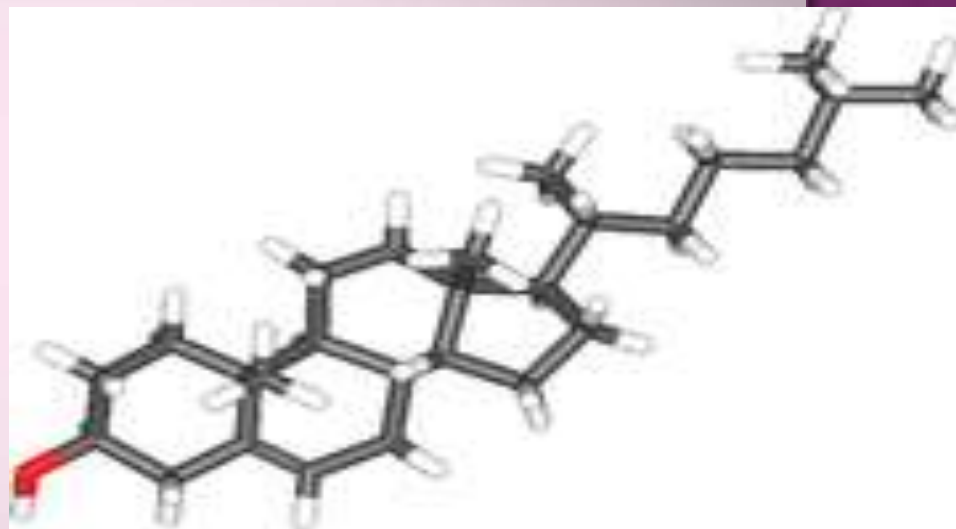
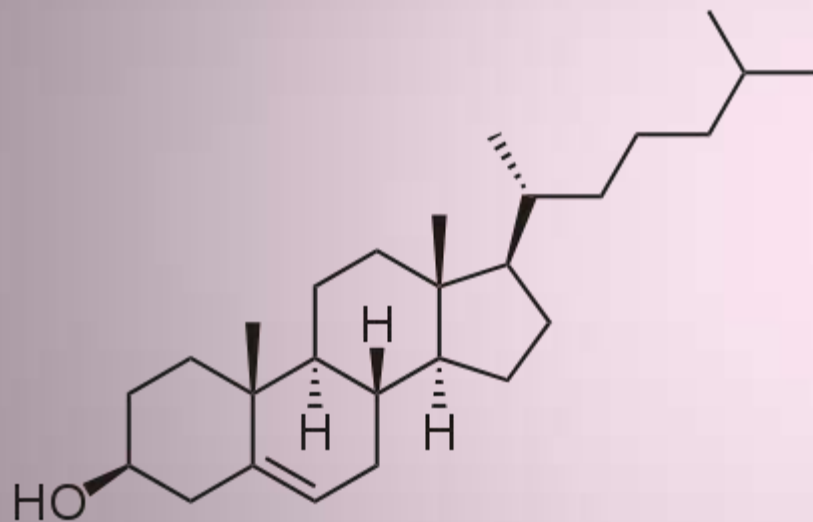
PARTO E OBESITÀ

- Il feto è sterile e viene colonizzato dai microbi durante il suo passaggio attraverso il canale del parto. Immediatamente dopo la nascita, il bambino è esposto a diverse fonti ambientali di batteri (pelle, bocca, latte della madre).
- Questo microbiota iniziale cambia in modo dinamico durante i primi mesi di vita.

- ◉ Durante un parto naturale, i neonati sono rapidamente colonizzati dai microbi, mentre i neonati con parto cesareo lo sono molto meno.
- ◉ I neonati con parto cesareo hanno un minor numero di Bifidobatteri intestinali e Batteroidi (famiglie protettive contro l'obesità) e sono più spesso colonizzati da C.difficile.

MICROBIOTA E COLESTEROLO

FORMULA DI STRUTTURA DEL COLESTEROLO



SI PUO' ABBASSARE IL COLESTEROLO CON I PROBIOTICI?

- Vari esperimenti sia in vivo che in vitro hanno fornito prove a sostegno del ruolo dei probiotici nel ridurre il colesterolo serico e migliorare i profili lipidici, portando ad un ridotto rischio di ipertensione.
- I genus in grado di svolgere questa attività sono fondamentalmente due: Bifidobatteri e lattobacilli.

UN ESEMPIO

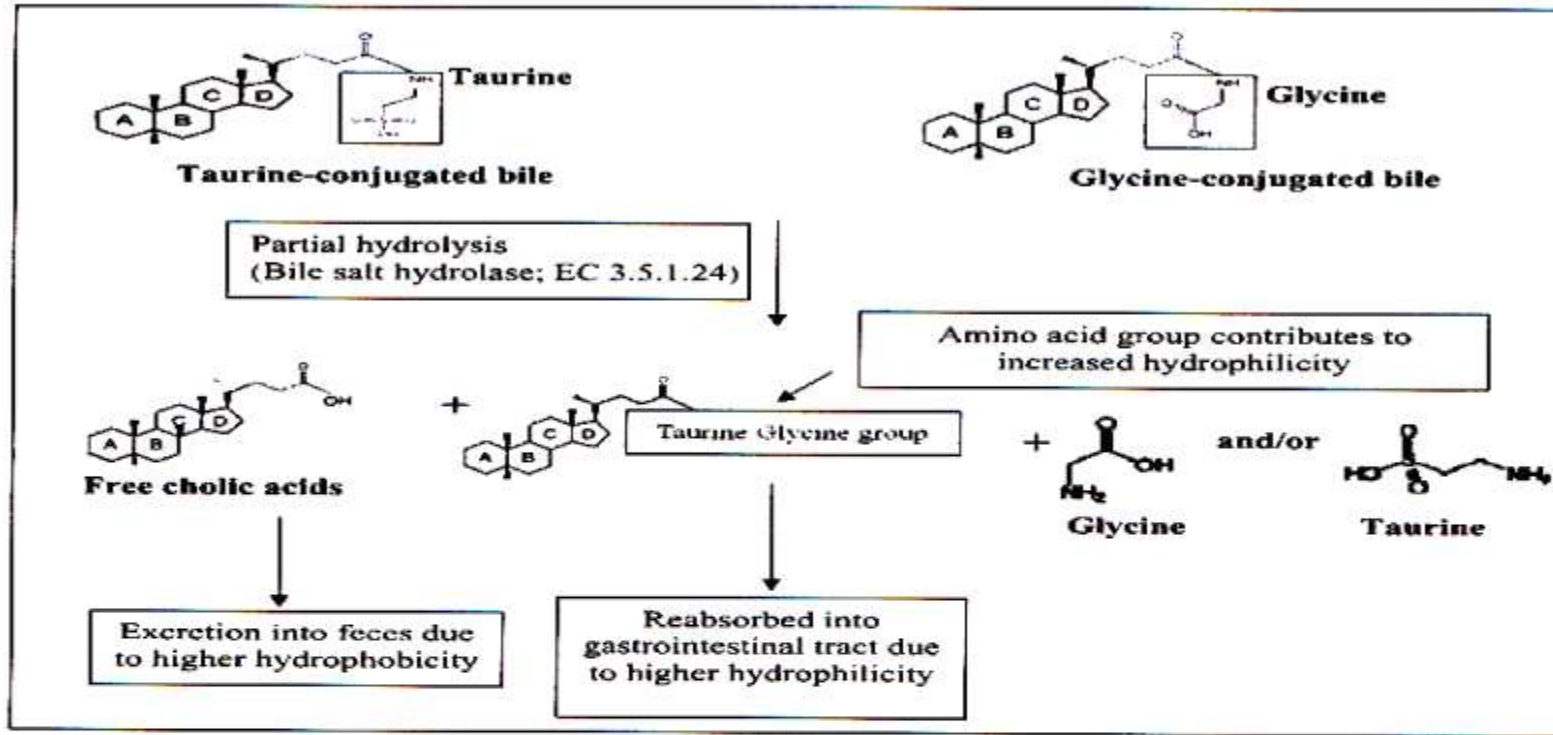
- ◆ Kierling et al. ha usato su 29 donne *Lb. Acidophilus* 145 e *B.Longum* 913 per 21 giorni e ha ottenuto un aumento della HDL, una diminuzione delle LDL e un rapporto LDL/HDL che è passato da 3,24 a 2,48
- ◆ J. Clin. Nutr 2002

TRE MECCANISMI POSSIBILI

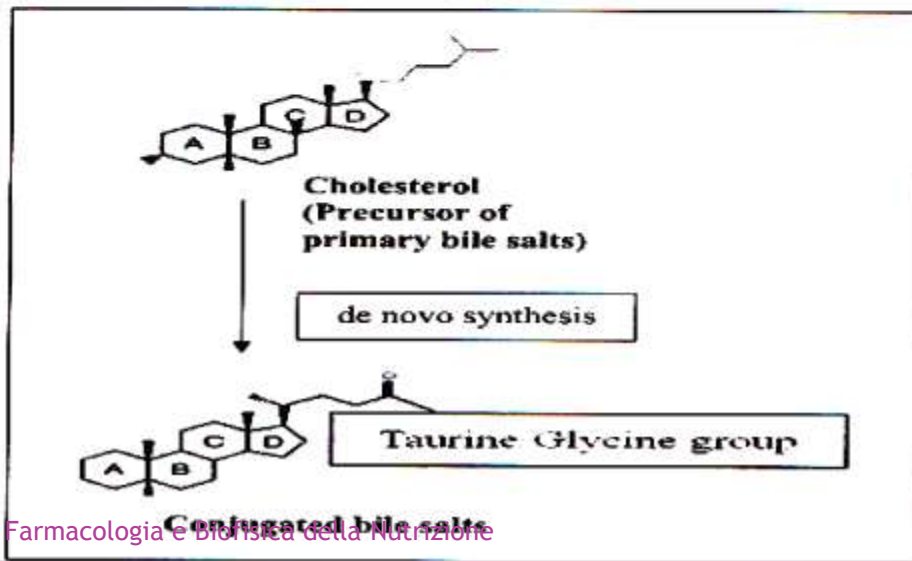
- Rimozione del colesterolo
- 1) per assimilazione, che è maggiore se i probiotici sono in crescita
- 2) attraverso il legame del colesterolo alla superficie cellulare grazie alla produzione di esopolisaccaridi (EPS) e peptidoglicani.
- Per deconiugazione enzimatica (BSH e Cholyglycine idrolasi)

Figure 1. Postulated mechanism of BSH on bile (A) and the role of cholesterol as the precursor for synthesis of new bile acids (B).

(A)



(B)



MICROBIOTA E COMPORTAMENTO

- ◉ Nel Maggio del 2009 è stato pubblicato un lavoro di Stephen Collins della McMaster University di Hamilton (Ontario Canada) in cui veniva evidenziato un nesso diretto tra la flora batterica intestinale e il funzionamento cerebrale.

MICROBIOTA E COMPORTAMENTO

- ◆ I ricercatori hanno scoperto su modello murino che l'azione degli antibiotici determinava un innalzamento dell'ansietà. . A questa modificazione era associato anche un aumento del fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF), anch'esso in relazione con sintomi depressivi e ansiosi. Una volta sospesa la somministrazione degli antibiotici, il chimismo cerebrale e la flora batterica si normalizzavano.

IL FATTORE BDNF

- Il gene BDNF codifica per fattori di crescita che promuovono la sopravvivenza e la differenziazione delle cellule. È indispensabile per la sopravvivenza dei neuroni striatati nel cervello ed è coinvolto nella regolazione dei recettori dopaminergici.

MICROBIOTA E COMPORTAMENTO

- ◉ In una seconda fase, i ricercatori hanno provveduto a colonizzare topi dall'intestino sterile con batteri provenienti da altri ratti che mostravano schemi comportamentali diversi.

MICROBIOTA E COMPORTAMENTO

- In questo modo hanno scoperto che, a causa di questa “iniezione” di batteri, i topi modificavano il loro comportamento, diventando più attivi e aggressivi. Lo stesso avveniva, ma in maniera speculare, se i topi “donatori” erano associati a un comportamento passivo.

**GRAZIE PER
L'ATTENZIONE**