

**EDUCARE IL MICROBIOTA  
INTESTINALE PER  
IL BENESSERE DELLA  
PANCIA E NON SOLO**



La barriera epiteliale, il sistema immunitario mucosale e il microbiota e rappresentano tre sistemi fondamentali nel mantenere l'equilibrio intestinale. La barriera intestinale ha una superficie vastissima (300 m<sup>2</sup>) che da un lato deve impedire l'ingresso dei microrganismi patogeni (*traslocazione batterica*), dall'altra deve essere selettivamente permeabile ad una serie di sostanze derivate dalla digestione degli alimenti (*assorbimento intestinale*). Per assolvere a questi compiti, il monostrato epiteliale è aiutato da una popolazione cellulare che funge da sentinella, cioè le cellule dendritiche, che grazie alle loro estroflessioni citoplasmatiche si fanno strada attraverso la barriera epiteliale disassemblando momentaneamente le giunzioni interenterocitarie (*giunzioni strette*), ed intercettano gli antigeni luminali, discriminando finemente quelli che possono passare attraverso la barriera.

Oltre alle cellule epiteliali ed alle giunzioni strette, altri meccanismi cooperano nel mantenere l'integrità della barriera, come il muco prodotto dalle cellule caliciformi, le immunoglobuline A secretorie (sIgA) prodotte dalle plasmacellule della lamina propria, ed una serie di citochine ad azione anti-infiammatoria come la linfopoietina timica stromale (TSLP) ed il fattore di crescita trasformante beta (TGF- $\beta$ ). Il microbiota intestinale, grazie alla sua ricchezza di batteri commensali ad azione tolerogenica ed anti-infiammatoria (*bifidobatteri, lattobacilli*), coopera nel mantenimento dell'omeostasi immunitaria intestinale attraverso la degradazione delle fibre solubili ed insolubili introdotte con la dieta (legumi, verdura, frutta) e la conseguente produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA), in particolare l'acido butirrico.

Inoltre, il microbiota intestinale in condizioni fisiologiche è in grado di mantenere l'integrità della barriera epiteliale attraverso l'interazione con i recettori Toll-like (TLR) espressi sulla superficie degli enterociti, e di arginare l'infiammazione intestinale attraverso l'inibizione della trascrizione del fattore di trascrizione nucleare NF- $\kappa$ B, che è uno dei più potenti attivatori trascrizionali di citochine pro-infiammatorie. Un sovvertimento di questo delicato equilibrio, ad esempio per l'intervento di una noxa patogena (*infezione batterica intestinale*), porta ad uno sbilanciamento dei meccanismi regolatori, con conseguente aumento di citochine pro-infiammatorie come il fattore di necrosi tumorale- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), l'interleuchina-6 (IL-6) o l'interleuchina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), e diminuzione delle citochine anti-infiammatorie come l'interleuchina-4 (IL-4) e l'interleuchina-10 (IL-10). Ciò si traduce nell'attivazione di meccanismi di danno intestinale, come il rilascio di metalloproteinasi della matrice (MMP), che attraverso una digestione delle proteine della matrice extracellulare (ECM) inducono le lesioni tipiche delle malattie infiammatorie croniche intestinali, quali le ulcere che si osservano nella colite ulcerosa, o le fistole, gli ascessi e le stenosi fibrotiche, che si osservano nella malattia di Crohn.

Il fatto che molte malattie del tratto gastrointestinale sono risultate essere associate ad un'alterazione quali/quantitativa del microbiota intestinale (*disbiosi*) ha fatto ipotizzare la possibilità di utilizzare terapeuticamente in alcune condizioni patologiche i probiotici come rimodulatori dell'omeostasi intestinale, allo scopo di (i) regolare la sensibilità viscerale o la permeabilità intestinale (*nella sindrome dell'intestino irritabile, o nella malattia diverticolare sintomatica non complicata*), (ii) reindurre la tolleranza orale ad antigeni alimentari come il glutine (*nella malattia celiaca, o nell'ipersensibilità al glutine non-celiaca*), (iii) ridurre la risposta infiammatoria mucosale (*nella colite ulcerosa, o nell'enteropatia da farmaci anti-infiammatori non steroidei*), o (iv) riequilibrare il rapporto tra le varie specie batteriche in seno al microbiota intestinale (*nella sindrome da contaminazione batterica dell'intestino tenue, o nella diarrea post-antibioticoterapia*).

Numerosi studi sono stati condotti allo scopo di esplorare i meccanismi attraverso cui i probiotici esplicano un'azione immunoregolatoria a livello intestinale. In particolare, in un modello *in vitro* di mucosa intestinale (*Transwell*) è stato dimostrato che alcuni probiotici, come il *Lactobacillus plantarum*, il *Lactobacillus rhamnosus GG*, ed il *Lactobacillus paracasei B21060*, erano in grado di stimolare la produzione epiteliale di TSLP e TGF- $\beta$ , e di stimolare direttamente le cellule dendritiche modulandone l'attività citochino-produttiva verso un profilo tolerogenico, dominato dalla iperproduzione di IL-10. Gli effetti anti-infiammatori dei probiotici sono stati dimostrati anche in modelli di colite sperimentale indotta dalla somministrazione di destrano sodio solfato (DSS). In questi modelli, il pretrattamento con *Bifidobacterium longum* era in grado di determinare una significativa riduzione del danno mucosale DSS-indotto. Va sottolineato che gli effetti del *Bifidobacterium longum* non si estrinsecano solo sull'infiammazione mucosale, ma anche sulla permeabilità intestinale, dal momento che hanno la capacità di ripristinare il segnale di alcune proteine cruciali nel sigillare le giunzioni strette, come l'occludina e la ZO-1.

In età avanzata, disturbi del comportamento alimentare (*dieta monotona, povera di fibre e di cibi freschi*), alterazioni della motilità intestinale (*stipsi cronica*) e riduzione della secrezione acida da parte delle cellule parietali gastriche (*acloridria*) possono rappresentare cofattori determinanti nel favorire una condizione di disbiosi. Con l'invecchiamento si ha un impoverimento del variegato spettro delle specie batteriche del microbiota intestinale, con una penuria di microrganismi dotati di funzioni protettive (*bifidobatteri, lattobacilli*) ed una dominanza di popolazioni batteriche con proprietà pro-infiammatorie (*clostridi, bacteroidetes*) e con potenziale lesivo sulla barriera intestinale.

Questo può determinare un'alterazione della permeabilità mucosale, un aumento dell'infiammazione intestinale (*diverticoliti*) e della suscettibilità alle infezioni (*colite da Clostridium difficile*), una depressione della motilità intestinale (*stipsi cronica*) (Figura 1),

ed un'alterazione dell'asse intestino-cervello con una predisposizione alla neuroinfiammazione, tant'è che da alterazioni della flora batterica intestinale sembrerebbero derivare metaboliti in grado di favorire la neurodegenerazione, ponendo così le basi fisiopatologiche per lo sviluppo delle malattie neurodegenerative. Sempre più evidenze sperimentali supportano, infatti, l'ipotesi che una disregolazione del microambiente intestinale possa avere un ruolo nella induzione dei processi di atrofia neuronale e amiloidogenesi che sono stati implicati nella malattia di Alzheimer. Quest'ultima è la causa più comune di demenza ed ha un importante impatto sulla popolazione anziana, con 35 milioni di persone affette e circa un milione di nuovi casi all'anno. Se da un punto di vista sintomatologico la malattia di Alzheimer è caratterizzata da un corredo sintomatologico che comprende afasia, disturbi comportamentali, alterazioni del tono dell'umore e incapacità di orientamento, da un punto di vista anatomopatologico si caratterizza per la presenza nel cervello di placche amiloidi e grovigli neurofibrillari. L'accumulo aberrante di  $\beta$ -amiloide a livello encefalico conduce nel corso del tempo a disfunzione neuronale e morte cellulare.

Le prime evidenze a sostegno del nesso tra malattia di Alzheimer e microbiota intestinale derivano da modelli animali. In particolare, è stato dimostrato che le capacità mnesiche di topi che non hanno avuto una colonizzazione batterica a livello intestinale perché vivono in condizioni di sterilità sono fortemente compromesse rispetto ai topi con una fisiologica popolazione microbica intestinale. Inoltre, il trattamento dei topi con probiotici è stato in grado di prevenire i deficit mnesici indotti da una gastroenterite, mentre l'eradicazione del microbiota mediante antibiotico terapia induce evidenti difetti della microglia, con presenza di alterazioni cellulari e immaturità. La successiva ripopolazione dell'intestino con un microbiota variegato è in grado, almeno parzialmente, di ripristinare le caratteristiche della normale microglia.

Se da un lato vi sono prove di una implicazione del microbiota intestinale nell'induzione di processi neuro-infiammatori/degenerativi nei modelli animali, nell'uomo ancora mancano evidenze convincenti. Infatti, i dati circa il ruolo dell'asse intestino-cervello nei pazienti con malattia di Alzheimer sono esigui, sebbene forniscano nuove interessanti idee per studi futuri. La scadente igiene orale è stata associata allo sviluppo di malattia di Alzheimer in diversi studi. Esami radiologici avanzati, quale la tomografia ad emissione di positroni, hanno dimostrato l'incremento di amiloide a livello cerebrale in pazienti affetti da parodontite. Un'alterazione del microbiota del cavo orale potrebbe dunque favorire lo sviluppo di malattia di Alzheimer. Recenti studi sull'analisi del microbiota fecale hanno evidenziato che i pazienti con malattia di Alzheimer che presentavano accumuli cerebrali di amiloide avevano livelli più elevati nel siero di citochine pro-infiammatorie rispetto ai pazienti senza depositi di amiloide. In particolare, i pazienti con amiloide avevano più elevate concentrazioni fecali di *Escherichia* e *Shigella*, mentre l'*Eubacterium rectale* era ridotto.

In conclusione, è difficile al momento stabilire quanto siano le modificazioni del microbiota ad innescare la neuro-infiammazione e i conseguenti processi degenerativi, o quanto sia l'invecchiamento di per sé ad innescare un viraggio pro-infiammatorio del microbiota, così contribuendo allo sviluppo della malattie neurodegenerative. Questi meccanismi possono essere particolarmente attivi nell'anziano affetto da fragilità, una condizione clinica caratterizzata da aumentato rischio di eventi avversi (ospedalizzazione, istituzionalizzazione, cadute, morte) dovuta ad una ridotta facoltà di far fronte a stress di varia natura. Nell'anziano fragile è stata documentata una ridotta variabilità nella composizione del microbiota associata ad un aumentato stato di infiammazione (*inflamm-ageing*). Studi traslazionali volti a manipolare il microbiota intestinale allo scopo di prevenire, arrestare o far regredire la malattia di Alzheimer sono attualmente in corso.

## **MICROBIOTA E FRAGILITÀ**

Alla nozione che il microbiota intestinale subisce delle alterazioni nella composizione quali/quantitativa durante l'invecchiamento con conseguente innesco di uno stato di disbiosi, oggi si è aggiunta la dimostrazione che nel paziente fragile la componente microbica della flora intestinale è ulteriormente alterata rispetto all'anziano non fragile, con declino dei *Bacteroides* e aumento dei *Ruminococchi*. Inoltre, è stato dimostrato che il pattern del microbiota fecale può variare a seconda che l'anziano abiti a domicilio, risieda in una casa di riposo, sia ospedalizzato, o si trovi in un centro riabilitativo, e si modifica in funzione della durata di permanenza nella istituzione, in funzione della dieta e della terapia farmacologica, spesso improntata ad un uso cronico di inibitori della pompa protonica, anti-aggreganti e farmaci anti-infiammatori non steroidei. A tal proposito, è stato documentato che gli anziani in terapia con farmaci anti-infiammatori non steroidei presentano non solo una composizione anomala della flora intestinale, ma anche una ridotta produzione di acidi grassi a catena corta, in particolare di acido butirrico, che ha dimostrato proprietà anti-infiammatorie e di ripristino della tolleranza orale, ed è in grado di favorire la produzione di IgA secretorie e la riparazione tissutale, nonché di regolare l'apoptosi linfocitaria.

È stato dimostrato che la rimodulazione terapeutica del microbiota intestinale attraverso la somministrazione di probiotici è in grado di prevenire il danno indotto dai farmaci anti-infiammatori non steroidei. La dimostrazione in un modello animale di colite sperimentale che il trattamento preventivo con *Faecalibacterium prausnitzii* fosse in grado di prevenire il danno intestinale indotto da naprossene ha portato a testare nell'uomo il potenziale terapeutico dei probiotici nella enteropatia da farmaci anti-infiammatori non steroidei dell'anziano. In particolare, in uno studio pilota il *Lactobacillus casei* si è verificato efficace nella prevenzione del danno enteropatico indotto da basse dosi di acido acetilsalicilico (cardioaspirina).

Il meccanismo d'azione non è noto, ma è stato ipotizzato che possa coinvolgere una rimodulazione delle prostaglandine o l'effetto antinfiammatorio degli acidi grassi a catena corta sulla riparazione tissutale.

Un capitolo interessante nell'ambito del rapporto tra senescenza e microbiota è quello degli ultracentenari, nei quali è stato dimostrato che la flora intestinale ha un pattern davvero peculiare, essendo diversa sia da quella della popolazione anziana fragile che da quella dei giovani adulti, ed è molto ricca di *bifidobatteri* che estrinsecano *in vitro* una potente attività immunoregolatoria ed anti-infiammatoria. Inoltre, la composizione del microbiota è risultata essere significativamente differente in soggetti che hanno un diverso stato funzionale valutato mediante indici multidimensionali, come il *Multidimensional Prognostic Index* (MPI) o un diverso stato nutrizionale valutato mediante analisi della composizione corporea (massa magra *versus* massa grassa). In un recente studio condotto su 728 gemelle allo scopo di silenziare l'eventuale interferenza della penetranza genetica, è stata dimostrata una differente composizione del microbiota in rapporto al grado di fragilità, con aumento nelle donne fragili di *Dorea*, *Faecalibacterium prausnitzii* e *Lachnospiraceae*. In sostanza, più si va verso la fragilità, più la varietà del microbiota si riduce, con un progressivo impoverimento di quelle specie batteriche ad azione trofica sull'epitelio e ad azione soppressiva sul sistema immunitario associato alla mucosa intestinale (GALT). Degna di nota è la dimostrazione che non è l'età cronologica di per sé, ma quella biologica valutata mediante indici di fragilità multidimensionali ad essere correlata con la diversità dello spettro del microbiota intestinale.

Altro aspetto molto interessante è che una ridotta biodiversità del microbiota è associata con la politerapia (uso di più di 11 farmaci) e con un aumentato rischio di mortalità. A tutt'oggi non ci sono studi clinici randomizzati, in doppio cieco, controllati versus placebo che abbiano valutato l'impatto della terapia modulante il microbiota (prebiotici, probiotici o postbiotici) sulla condizione di fragilità, ad eccezione di due sperimentazioni cliniche: la prima condotta su 60 anziani mediante l'impiego di un prebiotico che ha mostrato come l'indice di fragilità misurato con un metodo multidimensionale non si modifica; la seconda condotta su 50 anziani, sempre con una formulazione prebiotica, che ha mostrato invece effetti positivi sulla fragilità, con un maggiore beneficio clinico nei pazienti che avevano un maggiore grado di fragilità. Tuttavia, l'esiguo numero di anziani arruolati, il relativamente breve periodo di trattamento (13 settimane) e i risultati clinici contrastanti non consentono di trarre conclusioni univoche al momento.

In conclusione, con l'invecchiamento il microbiota si impoverisce sia quantitativamente che qualitativamente, e tali modificazioni dipendono non solo dal processo di immunosenescenza (*inflamm-aging*), ma anche da fattori ambientali come le abitudini alimentari (peggiora con la monotonia alimentare), i farmaci (peggiora con la politerapia),

il setting abitativo (peggiora con l'ospedalizzazione) e lo stato nutrizionale (peggiora con la sarcopenia), e dalle comorbidità (ad esempio, diabete, neoplasie, malattie neurodegenerative) (Figura 1). È possibile che cambiamenti nella composizione del microbiota possano contribuire alle alterazioni biocliniche e neuropsicosociali del paziente anziano nel quale la fragilità va identificata, misurata e monitorata mediante strumenti multidimensionali come l'MPI. Rimane tuttavia da dimostrare come la modulazione terapeutica del microbiota intestinale mediante prebiotici, probiotici, postbiotici o antibiotici possa avere un'azione preventiva o terapeutica sulla condizione di fragilità.

### LEGENDA DELLA FIGURA

Nell'anziano fragile, l'alterazione del microbiota intestinale (disbiosi), sostenuta dall'influenza di cofattori ambientali (dieta, politerapia, setting abitativo e comorbidità), induce un aumento dell'infiammazione intestinale (aumentando così la suscettibilità allo sviluppo di diverticoliti in pazienti con diverticolosi del colon), un'alterazione della permeabilità mucosale (aumentando così la suscettibilità alle infezioni da *Clostridium difficile*), ed una depressione della motilità intestinale (con il conseguente manifestarsi di stipsi cronica che a sua volta aggrava ulteriormente lo stato di disbiosi).

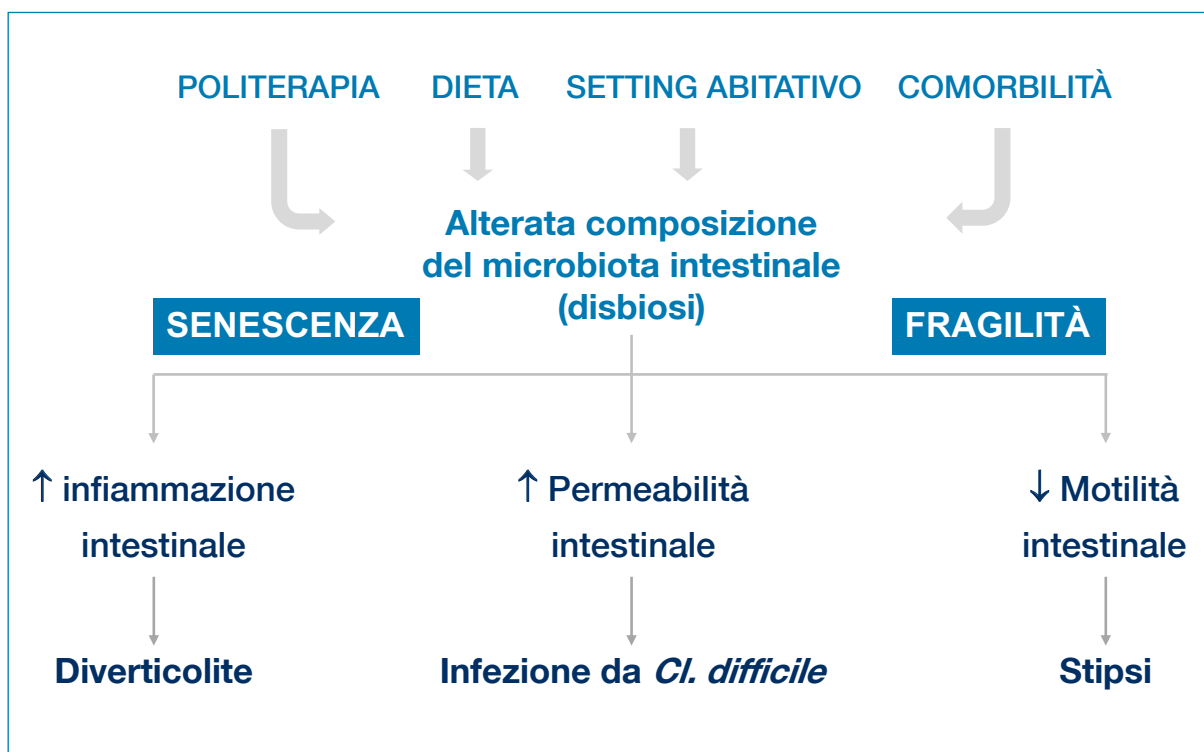


Figura 1