



MICROBIOMA MICROBIOTA Ricerca & Clinica

Supplemento a l.

n.1/2018

Indice Argomenti

- 1 **Probiotici e salute:
focus sul rischio
cardiovascolare**
Andrea Poli
- 5 **Microbiota,
invecchiamento
e fragilità**
Alberto Pilotto
- 8 **Microbiota intestinale
e salute muscolare**
Francesco Landi
- 11 **Ruolo del microbiota
nelle malattie renali**
Carmela Cosola

Comitato Scientifico

Claudio Mencacci

Dipartimento di Neuroscienze,
Salute Mentale-Dipendenze,
ASST Fatebenefratelli Sacco, Milano

Alberto Pilotto

Dipartimento Cure Geriatriche,
OrtoGeriatra e Riabilitazione,
Area delle Fragilità,
E.O. Ospedali Galliera, Genova

Andrea Poli

Nutrition Foundation of Italy, Milano

Sergio Riso

S.S. Dietologia e Nutrizione Clinica,
ASL Vercelli

PACINI
EDITORE
MEDICINA

Microbiota e Organismo Ospite: quali Interazioni?

Simposio – Congresso Nazionale SINPE 2017

La Nutrizione Clinica: un'opportunità per la Medicina di oggi e di domani

PROBIOTICI E SALUTE: FOCUS SUL RISCHIO CARDIOVASCOLARE

Andrea Poli

Nutrition Foundation of Italy, Milano

Accanto alle interazioni meglio conosciute fra il microbiota intestinale e l'organismo, quali la difesa dell'intestino dai patogeni e la modulazione del sistema immunitario, vi è un aspetto finora poco esplorato, quello del rapporto fra probiotici e rischio cardiometabolico e cardiovascolare (CV). Nella nostra popolazione rischio cardiometabolico significa soprattutto sovrappeso e obesità. Diversi studi hanno dimostrato come la popolazione batterica intestinale dei bambini in sovrappeso od obesi sia significativamente diversa rispetto a quella dei bambini in normopeso e come queste differenze possano giocare un ruolo causale nella comparsa del sovrappeso stesso ^{1 2}, tanto è vero che la presenza di sovrappeso, soprattutto nei primi sei mesi di vita, risulta significativamente diverso fra i bambini esposti o non esposti all'impiego di antibiotici (Fig. 1) ³.

L'uso di antibiotici si correla anche al rischio di sviluppare malattia diabetica nella popolazione adulta, probabilmente riconducibile all'induzione di alterazioni del microbiota che possono associarsi a una maggiore comparsa di sovrappeso. L'eccesso ponderale, aldilà degli aspetti di tipo genetico, rappresenta infatti il principale determinante del diabete. Una possibile spiegazione della correlazione tra microbiota e aumento del peso chiama in causa anche l'osservazione che alcuni lattobacilli tendono a inibire gli enzimi ad attività alfa o beta glucosidasi, con un'azione simile a quella dell'acarbiosio, con conseguente riduzione della risposta glicemica dopo il pasto ⁴.

Un ruolo importante sul rischio CV è giocato dal colesterolo: ebbene, una serie di dati suggerisce che alcuni ceppi batterici sono in grado di influenzare la colesterolemia. È stata

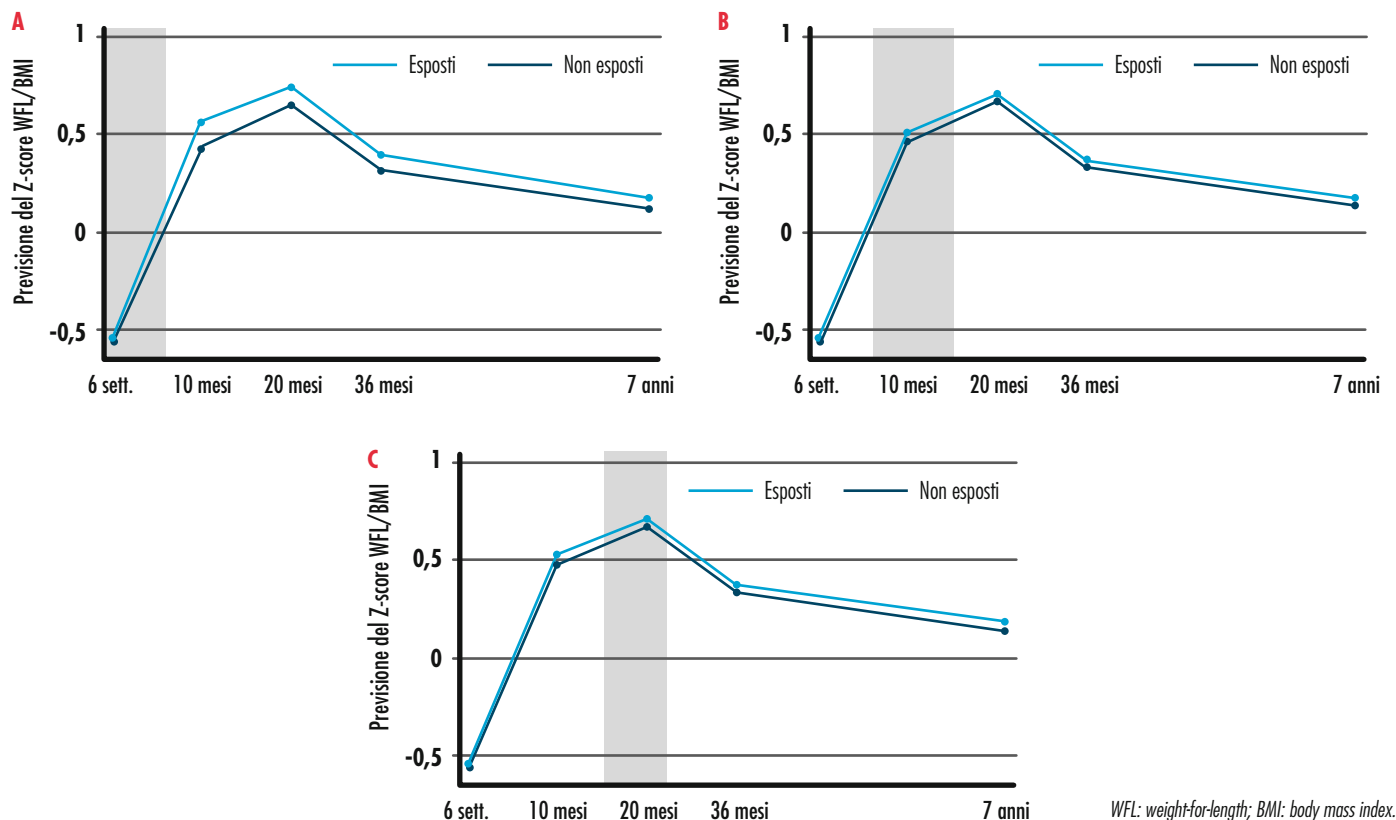


FIGURA 1.

Esposizione agli antibiotici (area grigia) nella prima infanzia e massa corporea (da Trasande et al., 2013, mod.)³. A: Esposizione prima dei 6 mesi. B: Esposizione tra 6 e 14 mesi. C: Esposizione tra 15 e 23 mesi.

descritta l'azione di un ceppo di lattobacillo acidofilo (ATCC 4356) sulla Niemann-Pick C1-like, la proteina di membrana che trasferisce il colesterolo dall'intestino all'interno delle enterociti; in presenza di questo ceppo di lattobacillo si assiste a una riduzione del 50% circa dell'attività di trasporto del colesterolo (Fig. 2)⁵.

Esiste anche un altro meccanismo attraverso cui i batteri possono ridurre la colesterolemia: alcuni di loro sono in grado di aumentare la deconiugazione degli acidi biliari, che non vengono così riassorbiti. È il caso per esempio di un lattobacillo reuteri (NCIMB 30242) che, dopo qualche settimana di somministrazione, determina una riduzione del 5% del rapporto LDL/HDL (lipoproteine a bassa densità/lipoproteine ad alta densità) e del 10% del rapporto apo B-100/apo A-1⁶. Al lattobacillo è stata ricondotta anche un'azione di tipo antinfiammatorio, dato interessante se si considera che l'infiammazione viene considerata uno dei principali meccanismi coinvolti nello

sviluppo di molte malattie degenerative. Esistono infine anche dati relativi agli effetti sulla pressione, soprattutto da parte di latticini fermentati da probiotici, che sono in grado di determinare una piccola, ma significativa riduzione (di alcuni millimetri di mercurio) della pressione, apparentemente poco rilevante, ma in realtà molto impattante a livello di popolazione⁷.

Un aspetto innovativo è relativo alla possibilità che gli effetti aterogeni di carne e uova siano mediati dal microbiota intestinale. In uno studio in cui sono stati analizzati soggetti che consumavano quantità crescenti di tuorli d'uovo si è visto come l'effetto sulla colesterolemia-LDL fosse del tutto trascurabile; tuttavia, al crescere del consumo dei tuorli si osservava un aumento della quantità di placca a livello carotideo⁸. Una possibile spiegazione di questo fenomeno chiama in causa il fatto che la colina presente nelle uova (ma lo stesso accade per la carnitina e per la fosfatidilcolina derivate dalla carne), in presenza di uno specifico microbiota in-

testinale, viene convertita in trimetilammina (TMA) che a livello epatico, per azione di una serie di enzimi, soprattutto delle flavin-monossidasi, viene successivamente convertita in TMAO (trimetilammina-N-ossido), un composto certamente aterogeno⁹.

A conferma di questo meccanismo sono i risultati di uno studio in cui è stata somministrata carnitina a un gruppo di topi e da cui emerge come il pretrattamento con antibiotici consenta di bloccare completamente l'aumento dei livelli di TMA e di TMAO indotto dalla carnitina¹⁰. A spiegare l'effetto aterogeno di TMAO vi sono probabilmente un'azione di tipo infiammatorio e un effetto sulla funzionalità delle HDL (anche se il ruolo di queste lipoproteine nella prevenzione dell'aterosclerosi è oggi riconsiderato). Il meccanismo in ogni caso è complesso: recentemente è stata pubblicata e descritta tutta la via dell'inflammasoma fino all'interleuchina 1 beta¹¹.

La TMAO è certamente aterogena. In uno studio condotto in soggetti presentatisi in

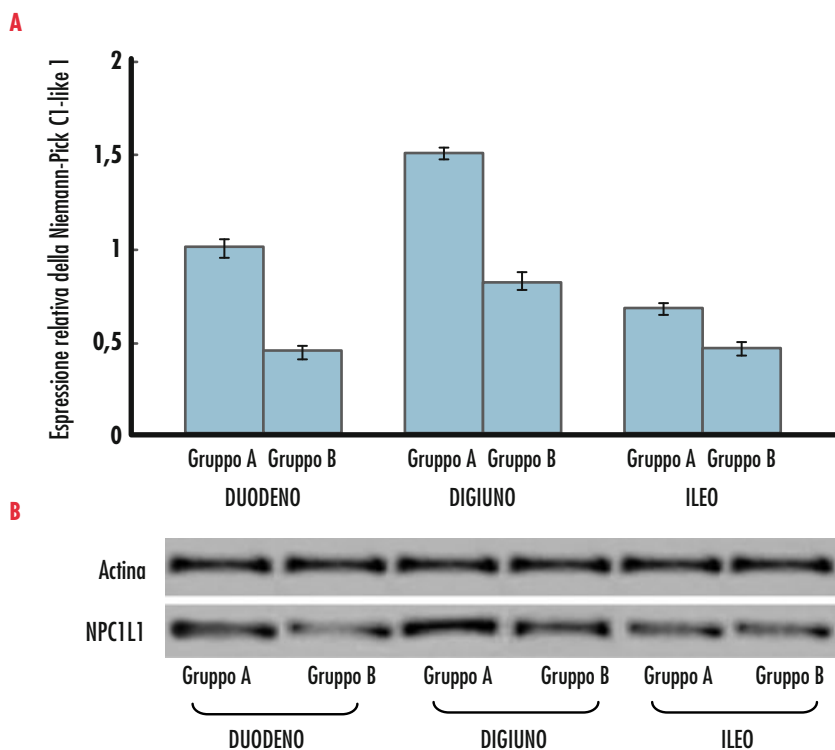
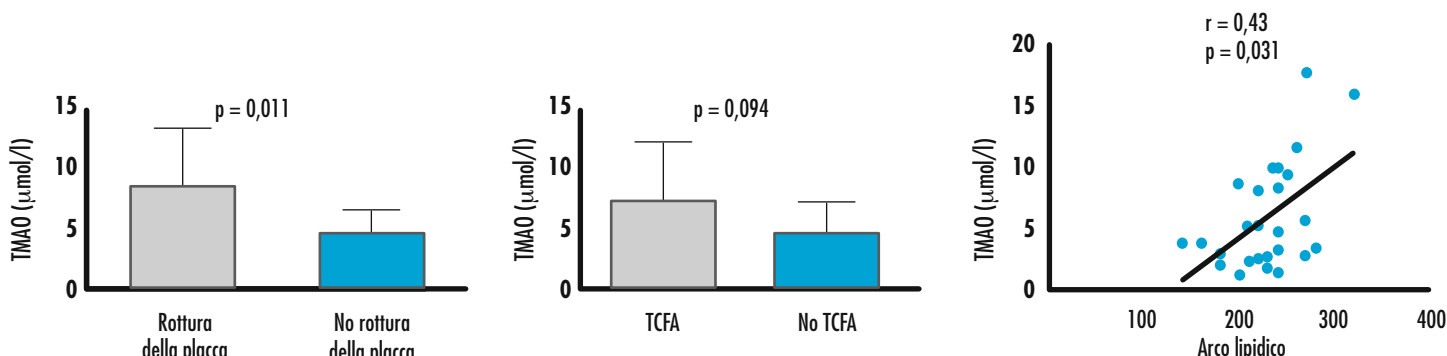


FIGURA 2.

Lattobacillo acidofilo ATCC 4356 e colesterolo plasmatico nei ratti: effetti sulla Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1). Gruppo A: controllo; Gruppo B: trattamento con ATCC 4356.

pronto soccorso con un sospetto dolore coronarico si è osservato come coloro nei quali si verificava poi mediante OCT (tomografia ottica della coerenza) la rottura di una placca in coronaria, i livelli della TMAO

fossero circa doppi rispetto a quelli osservati nei soggetti in cui la rottura non si era verificata; analogamente, nei pazienti che presentavano un ateroma con cappuccio sottile, uno dei determinanti più importanti



TMAO: trimetilammina-N-ossido; OCT: Tomografia a Coerenza Ottica; CHD: malattia coronarica; TCFA: Fibroateroma a cappuccio sottile.

FIGURA 3.

Correlazione tra TMAO e struttura e rottura della placca in pazienti con CHD studiati con OCT (Fu et al., 2016, mod.)¹².

di rottura della placca, il livello della TMAO era circa doppio rispetto agli altri e in generale era presente una correlazione fra il livello della TMAO e la quantità di tessuto lipidico ateromatoso (Fig. 3)¹².

Nella medesima direzione vanno i risultati di un altro studio che ha coinvolto 530 soggetti, pure presentatisi in pronto soccorso con un sospetto dolore coronarico: quelli in cui la diagnosi veniva confermata avevano livelli più elevati di TMAO rispetto ai soggetti in cui la diagnosi non veniva confermata¹³; inoltre, tanto più alto era il livello della TMAO e tanto maggiore era la probabilità di incorrere in recidive coronariche nel periodo successivo di follow-up. Anche la possibilità di sviluppare la malattia diabetica è sensibilmente aumentata in presenza di una TMAO elevata e da una recente metanalisi emerge come alti livelli di TMAO si associno a una maggiore probabilità di morte per tutte le cause, probabilmente correlata soprattutto agli eventi CV¹⁴.

È possibile influenzare questi fenomeni? Alcuni studi preliminari suggeriscono di sì: l'uso di specifici ceppi batterici potrebbe associarsi a variazioni dei livelli della TMAO, modificando il microbiota intestinale. Una possibilità documentata per esempio nel topo, grazie alla somministrazione di *Enterobacter aerogenes* ZDY01¹⁵. Ma un effetto analogo accade anche con la somministrazione di resveratrolo: l'aumento di concentrazione di TMAO dopo somministrazione di colina è per esempio ridotto in maniera molto sensibile dalla contemporanea somministrazione di resveratrolo; dopo un certo periodo il microbiota intestinale viene infatti "rimodellato" e risponde in maniera meno

marcata alla colina, in quanto tendono a disattivarsi le vie metaboliche che portano alla comparsa dei composti aterogeni. Si può dunque prospettare che la modificazione del microbiota, ottenuta direttamente mediante i probiotici o indirettamente, sfruttando l'effetto prebiotico di specifici composti, possa consentire di modificare la risposta dell'organismo agli alimenti. In futuro, la conoscenza del microbiota individuale permetterà probabilmente di personalizzare le raccomandazioni relative all'alimentazione e al suo rapporto con la prevenzione CV.

Bibliografia

- ¹ Karlsson CL, Onnerfält J, Xu J, et al. *The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight*. Obesity (Silver Spring) 2012;20:2257-61.
- ² Kalliomäki M, Collado MC, Salminen S, et al. *Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight*. Am J Clin Nutr 2008;87:534-8.
- ³ Trasande L, Blustein J, Liu M, et al. *Infant antibiotic exposures and early-life body mass*. Int J Obes (Lond) 2013;37:16-23.
- ⁴ Panwar H, Calderwood D, Grant IR, et al. *Lactobacillus strains isolated from infant faeces possess potent inhibitory activity against intestinal alpha- and beta-glucosidases suggesting anti-diabetic potential*. Eur J Nutr 2014;53:1465-74.
- ⁵ Huang Y, Wang J, Cheng Y, et al. *The hypocholesterolaemic effects of Lactobacillus acidophilus American Type Culture Collection 4356 in rats are mediated by the down-regulation of Niemann-Pick C1-Like 1*. Br J Nutrition 2010;104:807-12.
- ⁶ Jones ML, Martoni CJ, Prakash S. *Cholesterol lowering and inhibition of sterol absorption by Lactobacillus reuteri NCIMB 30242: a randomized controlled trial*. Eur J Clin Nutr 2012;66:1234-41.
- ⁷ Dong JY, Szeto IM, Makinen K, et al. *Effect of probiotic fermented milk on blood pressure: a meta-analysis of randomised controlled trials*. Br J Nutr 2013;110:1188-94.
- ⁸ Spence JD, Jenkins DJ, Davignon J. *Egg yolk consumption and carotid plaque*. Atherosclerosis 2012;224:469-73.
- ⁹ Krüger R, Merz B, Rist MJ, et al. *Associations of current diet with plasma and urine TMAO in the KarMeN study: direct and indirect contributions*. Mol Nutr Food Res 2017;61(11).
- ¹⁰ Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. *Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis*. Nat Med 2013;19:576-85.
- ¹¹ Chen MI, Zhu X, Ran L, et al. *Trimethylamine-N-oxide induces vascular inflammation by activating the NLRP3 inflammasome through the SIRT3-SOD2-miROS signaling pathway*. J Am Heart Assoc 2017;6:e006347.
- ¹² Fu Q, Zhao M, Wang D, et al. *Coronary plaque characterization assessed by optical coherence tomography and plasma trimethylamine-N-oxide levels in patients with coronary artery disease*. Am J Cardiol 2016;118:1311-5.
- ¹³ Li XS, Obeid S, Klingenberg R, et al. *Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide in acute coronary syndromes: a prognostic marker for incident cardiovascular events beyond traditional risk factors*. Eur Heart J 2017;38:814-824.
- ¹⁴ Schiattarella GG, Sannino A, Toscano E, et al. *Gut microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide as cardiovascular risk biomarker: a systematic review and dose-response meta-analysis*. Eur Heart J 2017;38:2948-2956.
- ¹⁵ Qiu L, Yang D, Tao X, et al. *Enterobacter aerogenes ZDY01 attenuates choline-induced trimethylamine N-Oxide levels by remodeling gut microbiota in mice*. J Microbiol Biotechnol 2017;27:1491-9.

MICROBIOTA, INVECCHIAMENTO E FRAGILITÀ

Alberto Pilotto

Dipartimento Cure Geriatriche, Orto geriatria e Riabilitazione, E.O. Ospedali Galliera, Genova

L'invecchiamento è un fenomeno universale, caratterizzato da continuità temporale (invecchiamento cronologico) e da eterogeneità (invecchiamento fenotipico). L'eterogeneità dell'invecchiamento dipende da diversi fattori quali la genetica e la biologia dell'individuo, dalle malattie concomitanti, dalle disabilità, dallo stato cognitivo, ed anche dagli aspetti sociali ed economici del soggetto.

I diversi fenotipi di invecchiamento in presenza di modificazioni nella composizione corporea, da una discrepanza fra produzione e utilizzazione di energia, da una disregolazione dell'omeostasi e dalla neurodegenerazione possono concretizzarsi nella condizione di fragilità che si manifesta come una ridotta riserva funzionale, ridotta resistenza allo stress, aumentata suscettibilità alle malattie e aumentato rischio di outcome negativi di salute (Fig. 1).

Da un punto di vista clinico la condizione di fragilità viene identificata grazie alla valutazione multidimensionale (VMD), che esplora le attività della vita quotidiana (*Activities of Daily Living*, ADL, e *Instrumental-ADL*, IADL), lo stato cognitivo, le multimorbilità, la nutrizione, l'isolamento e la tendenza alla depressione, il rischio di ridotta motilità e il conseguente maggior rischio di lesioni da decubito, il consumo di farmaci, lo stato economico e psicosociale dell'individuo. Da questi diversi domini o "dimensioni" è possibile ricavare un indice prognostico multidimensionale (MPI) predittivo di mortalità e di altri outcome negativi di salute. L'indice che esprime il rischio di fragilità è un valore continuo da 0 (rischio minimo) a 1 (rischio massimo); per praticità clinica, ricorrendo ad appropriati cut-off, l'indice può essere espresso in tre classi di rischio: lieve, moderato e severo.

Le modificazioni che accompagnano l'invecchiamento e la fragilità dell'anziano influenzano anche la composizione del microbiota. Studi sulla correlazione fra dieta e composizione del microbiota intestinale nell'anziano mostrano come determinati pattern dietetici si correlano con diversa

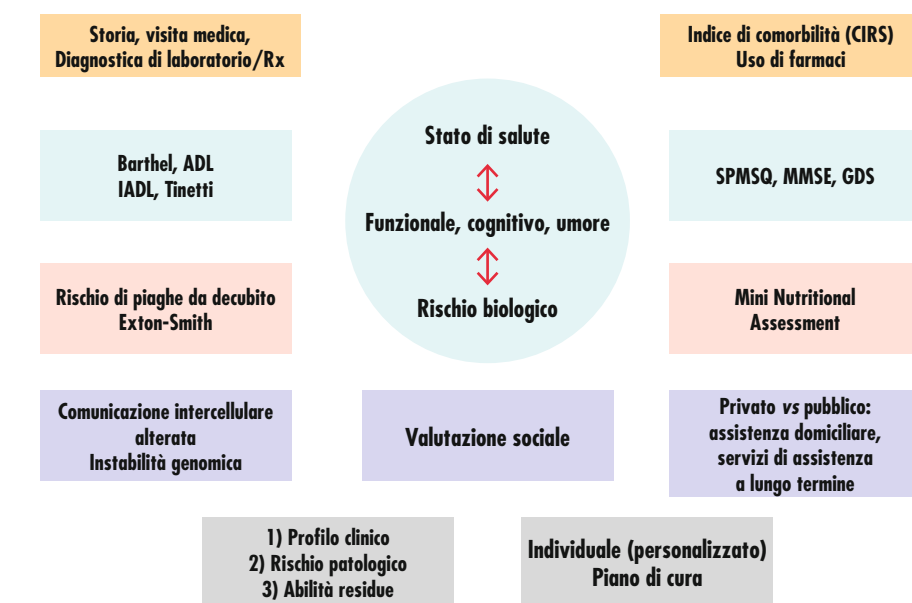
composizione del microbiota¹ e come la composizione del microbiota intestinale sia diversa se l'anziano vive al proprio domicilio, oppure in un istituto residenziale o in ospedale (Fig. 2).

Un lavoro condotto su 176 anziani residenti al proprio domicilio e in 282 ricoverati in strutture residenziali ha dimostrato che la composizione del microbiota intestinale si modifica con l'avanzare dell'età, e anche in funzione della durata della permanenza del soggetto anziano in un istituto residenziale². Questi cambiamenti del microbiota intestinale avvengono gradualmente e si possono relazionare con i diversi fenotipi clinici; infatti il microbiota intestinale è associato ai cambiamenti biologici che si osservano nell'invecchiamento modulando la attività del sistema immunitario, l'attività e la forza muscolare (sarcopenia) e la funzione

cognitiva, tutti elementi che sono rilevanti per il concetto multidimensionale di fragilità fisica, cognitiva e biologica.

Uno studio condotto su oltre 1000 soggetti di origine cinese di differenti età (da 3 anni sino a oltre 100 anni), in ottima salute, ha confermato le differenze di composizione del microbiota intestinale osservato con l'avanzare dell'età e anche che il microbiota intestinale di un soggetto anziano in buona salute differisce poco da quello di un adulto sano³. Uno studio in cui sono stati messi a confronto 21 soggetti centenari, 22 soggetti anziani e 20 soggetti giovani indica come vi sia un'influenza significativa del microbiota intestinale sul sistema immunitario: la presenza di un microbiota disbiotico infatti è associata a un aumento dello stato infiammatorio, una condizione nota come *inflammaging*⁴. L'infiammazione, a sua volta, insieme alla malnutrizione, al dismetabolismo glicolipidico e all'alterata attività ormonale, è significativamente associata alla condizione di fragilità, e all'indice prognostico multidimensionale (MPI) e quindi ad un aumentato rischio di mortalità⁵.

Il microbiota intestinale si comporta in maniera differente in funzione della compromissione funzionale, nutrizionale e dell'infiammazione potendo presentare un profilo



SPMSQ: Short Portable Mental Status Questionnaire; GDS: Geriatric Depression Scale; MMSE: Mini-Mental State (Examination).

FIGURA 1.

Valutazione multidimensionale.

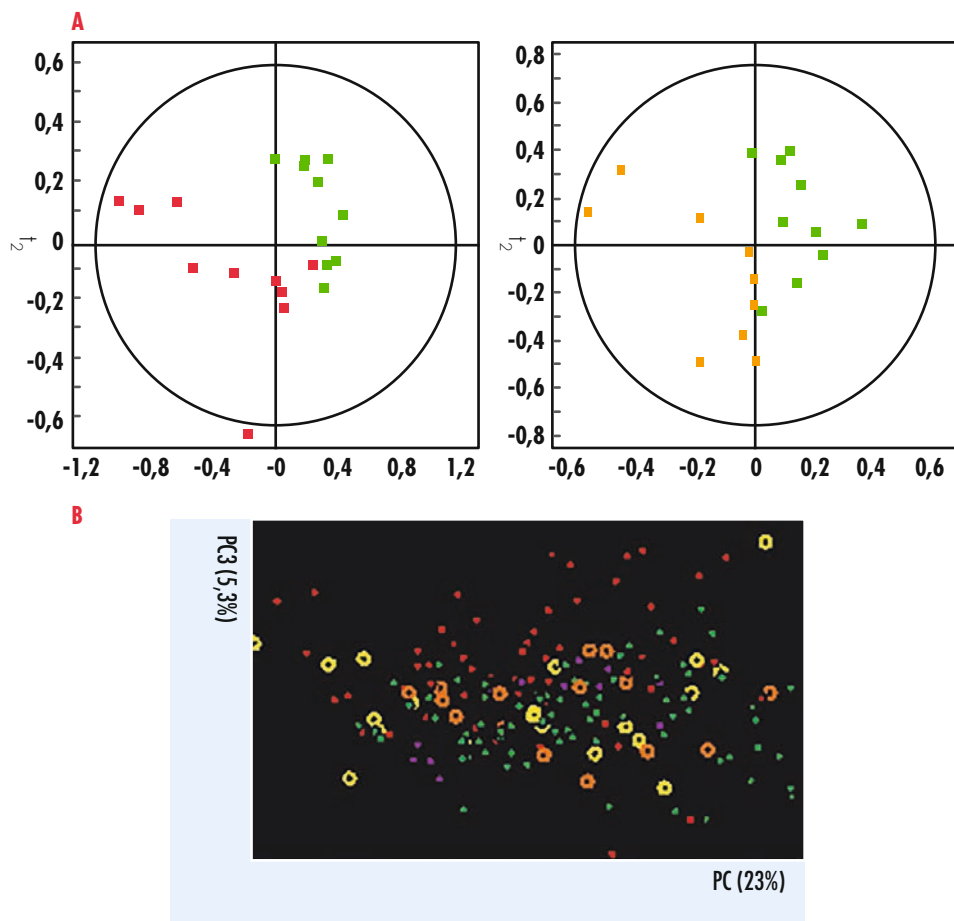


FIGURA 2.

A. L'analisi del microbiota separa i soggetti anziani in base a dove vivono: verde, strutture residenziali; giallo, day hospital; arancione, riabilitazione; rosso: istituti a lunga degenza; viola: soggetti giovani. B. Spettro di microbiota fecale di 29 soggetti anziani che vivono in strutture residenziali (verde) vs istituti a lunga degenza (rosso) e vs riabilitazione (arancione) (da Claesson et al., 2012, mod.)¹.

molto diverso anche in una fase precoce della fragilità. Interessanti in questo senso sono i risultati di uno studio condotto su 728 donne gemelle, in cui si è misurato il grado di fragilità e da cui emerge che, in presenza di un patrimonio genetico uguale, la composizione del microbiota è diversa nei soggetti fragili rispetto ai soggetti non fragili⁶. Una conferma viene anche da un recente articolo in cui, analizzando con una scala di fragilità 85 adulti di età compresa tra i 43 ed i 79 anni, la disbiosi gastrointestinale si correlava alla fragilità e all'età biologica e non all'età cronologica del soggetto⁷ (Fig. 3). Da un altro recente studio italiano emerge inoltre un'associazione fra riduzione della variabilità del microbiota intestinale in soggetti anziani e maggior numero di farmaci assunti e minore sopravvivenza⁸.

Sono stati condotti diversi studi per valutare gli effetti dei probiotici nell'anziano. Una review sistematica di una serie di trials in doppio cieco, controllati verso placebo dimostra come i probiotici possano essere utili per prevenire la comparsa di infezioni gastrointestinali e respiratorie e in uno studio anche nel migliorare la risposta al vaccino antinfluenzale (Fig. 4)⁹.

Un altro lavoro, che si proponeva di valutare gli effetti sulla fragilità, l'utilizzo per tre mesi di un prebiotico in una popolazione di 60 soggetti anziani, ha dimostrato un significativo miglioramento di due dei criteri di fragilità utilizzati (*exhaustion* e *grip strength*), mentre la condizione di fragilità come tale non veniva modificata in maniera significativa¹⁰. I dati suggeriscono che modificazioni del microbiota intestinale pos-

sono contribuire alle variazioni biologiche, cliniche, funzionali e psicosociali che si osservano nei pazienti anziani con fragilità e che alcuni probiotici possono essere efficaci nel riportare il microbiota dell'anziano verso una maggiore biodiversità, promuovendo probabilmente alcuni aspetti di salute, quali la riduzione dell'infiammazione e il miglioramento delle funzioni immunitarie. Ulteriori studi sono necessari per confermare se gli interventi che modulano il microbiota intestinale, nell'ambito di un intervento multicomponente che coinvolga dieta, attività fisica e appropriatezza prescrittiva dei farmaci, possano contribuire a prevenire la condizione di fragilità dell'anziano¹¹.

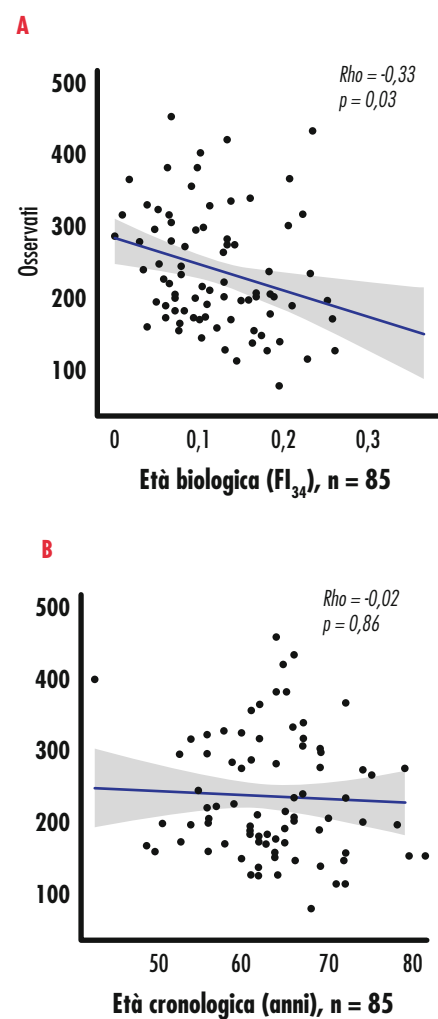


FIGURA 3.

Numero di varianti di sequenze osservati in 85 soggetti suddivisi per fragilità (Frailty Index 34) ed età (anni) (da Maffei et al., 2017, mod.)⁷.

Soggetti (n.)	Età (anni)	Ceppi di probiotici	Studio	Periodo	Effetti sul microbiota intestinale	Effetti sul sistema immunitario	Risultato
1072, che vivono da soli	> 70	<i>L. casei</i> DN-114001	Multicentrico, in doppio cieco, controllato con placebo	3 mesi + 1 mesi di follow-up	Aumento del <i>L. casei</i>	ND ←	Riduzione della durata media delle comuni infezioni respiratorie e gastrointestinali
31, residenti in case di riposo	72-103	<i>L. acidophilus</i> NCFM + <i>L. rhamnosus</i> HN001	Controllato con placebo, cross-over	2 settimane run in + 4 settimane probiotico + 4 settimane placebo	ND ←	Aumento della citotossicità delle cellule NK	ND ←
77, residenti in case di riposo, fragile	84 ± 9	<i>L. casei</i> Shirota	Studio aperto, controllato con placebo	1 mese	Aumento del <i>Lactobacillus</i> e <i>Bifidobacterium</i> , riduzione dell' <i>Enterobacteriaceae</i>	ND ←	Diminuzione della durata media della gastroenterite da norovirus
60, residenti in case di riposo	65-85	<i>L. plantarum</i> CECT7315/7316	Randomizzato in doppio cieco, controllato con placebo	3 mesi, vaccino antinfluenzale 3 mesi prima del trial 176 giorni, vaccino antinfluenzale dopo 21 giorni 6 mesi	ND ←	Aumento di IgA, IgG, IgM specifiche per l'influenza	ND ←
737, residenti in case di riposo	> 65	<i>L. casei</i> Shirota	Randomizzato in doppio cieco, controllato con placebo		ND ←	ND ←	Nessun effetto sulla risposta al vaccino antinfluenzale
47, che vivono da soli	65-90	<i>L. delbrueckii</i> sottospecie <i>bulgaricus</i>	Multicentrico in doppio cieco, controllato con placebo		ND ←	Aumento della percentuale delle cellule NK, delle cellule T "immature" e del peptide antimicrobico hBD2; diminuzione di IL-8	ND ←
27, residenti in case di riposo	> 65	<i>B. longum</i> BB536	Randomizzato in doppio cieco, controllato con placebo	5 settimane di pre-somministrazione, vaccino antinfluenzale dopo 3 settimane + 14 settimane di prova	ND ↓↓	Aumento dell'attività delle cellule NK e dell'attività del neutrofilo battericida	Minor incidenza di influenza e febbre

FIGURA 4.

Effetto dei probiotici sul microbiota intestinale, sul sistema immunitario e sulla salute delle persone anziane: risultati 2010-12 (da Biagi et al., 2013, mod.) ⁹.

Bibliografia

- Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature* 2012;488:178-84.
- O'Toole PW, Jeffery IB. Gut microbiota and aging. *Science* 2015;350:1214-6.
- Bian G, Gloor GB, Gong A, et al. The gut microbiota of healthy aged Chinese is similar to that of the healthy young. *mSphere* 2017;2(5). pii: e00327-17. doi: 10.1128/mSphere.00327-17.
- Biagi E, Nylund L, Candela M. et al. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One* 2010;5:e10667.
- Fontana L, Addante F, Copetti M, et al. Identification of a metabolic signature for multidimensional impairment and mortality risk in hospitalized older patients. *Aging Cell* 2013;12:459-66.
- Jackson MA, Jeffery IB, Beaumont M, et al. Signatures of early frailty in the gut microbiota. *Genome Med* 2016;29:8:8.
- Maffei VJ, Kim S, Blanchard E 4th, et al. Biological aging and the human gut microbiota. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2017;72:1474-82.
- Ticinesi A, Milani C, Lauretani F, et al. Gut microbiota composition is associated with polypharmacy in elderly hospitalized patients. *Sci Rep* 2017;7:11102.
- Biagi E, Candela M, Turroni S, et al. Ageing and gut microbes: perspectives for health maintenance and longevity. *Pharmacol Res* 2013;69:11-20.
- Buigues C, Fernández-Garrido J, Pruimboom L, et al. Effect of a prebiotic formulation on frailty syndrome: a randomized, double-blind clinical trial. *Int J Mol Sci* 2016;17(6). pii: E932. doi: 10.3390/ijms17060932.
- Mello AM, Paroni G, Daragjati J, et al. Gastrointestinal microbiota and their contribution to healthy aging. *Dig Dis* 2016;34:194-201.

MICROBIOTA INTESTINALE E SALUTE MUSCOLARE

Francesco Landi

Responsabile U.O. Geriatria, Università Cattolica, Policlinico Gemelli, Roma

La struttura, la massa e la funzione muscolare si modificano con l'invecchiamento, come documentato in occasione di una serie di survey effettuate in quasi 9000 soggetti sani e che mostrano come a 45-50 anni la massa muscolare, determinata misurando la circonferenza del polpaccio, cominci a declinare sia nei maschi, sia nelle femmine ¹. Anche la forza, misurata con l'Hand grip strenght test, inizia a declinare in entrambi i sessi a partire dalla stessa età. Questa condizione è accompagnata da perdita di funzione documentata dal Chair stand test, in cui si cronometra la capacità di alzarsi e sedersi dalla sedia per 5 volte senza l'aiuto delle braccia. Fino a 45 anni il tempo è mediamente di 6 secondi, dopodiché i tempi si allungano fino ad arrivare negli ottantenni a quasi 10 secondi. I tre parametri, la massa, la funzione e la forza muscolare sono quelli da considerare per porre diagnosi di sarcopenia (Fig. 1). Quest'ultima rappresenta uno dei fattori principali che portano alla fragilità fisica ². Alla base della sarcopenia vi è una serie di fattori: accanto all'invecchiamento entrano in gioco

co la sedentarietà, la malnutrizione, lo stress ossidativo, l'infiammaging, ma anche le modificazioni ormonali, le malattie, la riduzione dei motoneuroni e altri ancora (Fig. 2).

Una serie di dati suggerisce la possibilità di prevenire la sarcopenia: la cellula muscolare beneficia delle proteine, degli aminoacidi essenziali, ad esempio della leucina, dei metaboliti della leucina come l'HMB (idrossimetilbutirrato), della vitamina D e degli omega-3. Il fatto che questi macro- e micronutrienti possano esercitare un effetto positivo sulla sintesi proteica a livello della cellula muscolare è però condizionato da una serie di fattori. Alcuni di questi non sono modificabili, ad esempio l'età, il sesso, i geni; altri fattori tuttavia possono essere modificati, a partire dall'alimentazione (quando, cosa e quanto si mangia) e dall'esercizio fisico ³.

Fra i fattori modificabili c'è anche il microbiota intestinale che a sua volta si modifica con l'invecchiamento. Normalmente oltre il 70% della flora batterica intestinale è composto da due phyla principali, i *firmiculates* (dal 60 all'80%) e i *bacterioides* (dal 20 al

40%). Con l'invecchiamento si verifica uno squilibrio fra questi due grandi componenti e ciò comporta una disregolazione immunologica, con creazione di un segnale infiammatorio, che probabilmente rappresenta uno dei link anche per l'apparato muscolare. Sappiamo che esistono correlazioni fra microbiota intestinale e singole malattie: l'artrite reumatoide, l'arteriosclerosi, l'obesità, la steatosi epatica, la fragilità, la malattia di Alzheimer. Per quanto riguarda in particolare l'obesità, le malattie metaboliche e le alterazioni del microbiota entra in gioco una condizione di insulino-resistenza che aiuta a comprendere l'interazione fra il diabete e la sarcopenia in quanto proprio l'insulino-resistenza può essere uno dei fattori che contribuiscono alla sua comparsa (Fig. 3).

Le alterazioni cui il microbiota va incontro con l'invecchiamento includono una diminuzione dei *firmiculates* e un aumento dei *bacterioides*. Il mutato pattern del microbiota correla con la fragilità alla cui base c'è proprio quella della salute muscolare. Esiste una specie di loop proinfiammatorio della disbiosi (Fig. 4) che favorisce immunosenescenza e infiammaging che a sua volta correla con la fragilità e con la sarcopenia. Tutto ciò significa che la relazione tra intestino e muscolo non è solo statistica, ma che vi è un cross-talk fra l'intestino e i vari organi e apparati, ma significa anche che il microbiota potrebbe rappresentare un nuovo target terapeutico. È stato chiaramente dimostrato in che misura il microbiota può influenzare soprattutto il metabolismo proteico e quindi il muscolo (Fig. 5) ⁶.

Il microbiota può modulare la disponibilità di aminoacidi e le evidenze suggeriscono la possibilità di modificare questa capacità tanto che, ad esempio, la somministrazione di antibiotici aumenta i livelli di aminoacidi circolanti, mentre la somministrazione di alcuni probiotici si associa a un particolare profilo di aminoacidi fecali; inoltre il microbiota intestinale esercita effetti indiretti sulla sintesi proteica attraverso il rilascio di composti quali l'acido linoleico, l'acetato e i sali biliari.

Studi sperimentali (condotti nel *Caenorhabditis elegans ndr*) hanno mostrato come i batteri intestinali siano in grado di modulare l'attività mitocondriale e promuovere la longevità. Nel bilancio fra invecchiamento attivo e invecchiamento con disabilità entrano in gioco vari fattori, quali l'esercizio fisico e la dieta equilibrata, ma un ruolo è rivestito anche dai probiotici. Lattobacilli e bifidobatteri sono i probiotici più usati; alcuni di questi sono dotati di effetti specifici come nel

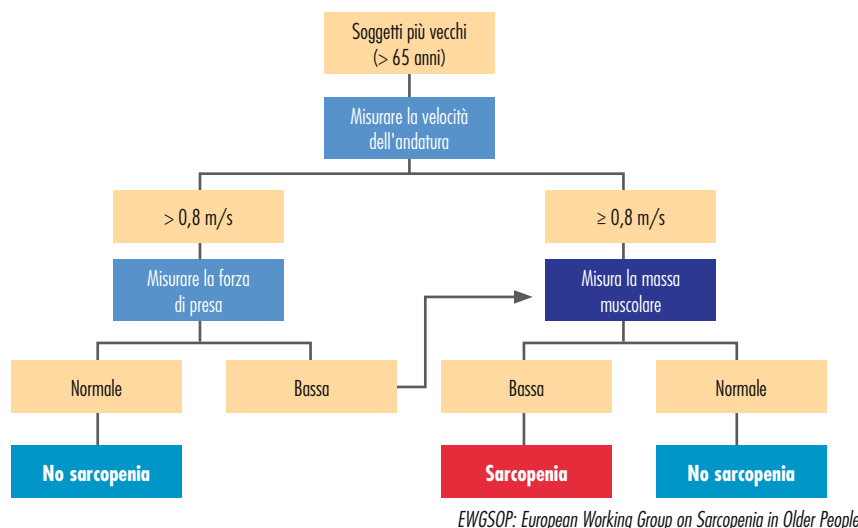


FIGURA 1.

EWGSOP ha suggerito un algoritmo per la ricerca di casi di sarcopenia in soggetti anziani.

- Inattività fisica e riduzione dell'apporto dietetico
- Diminuzione della sintesi delle proteine e aumento della protezione in caso di violazione
- Infiltrazione di grasso nei muscoli

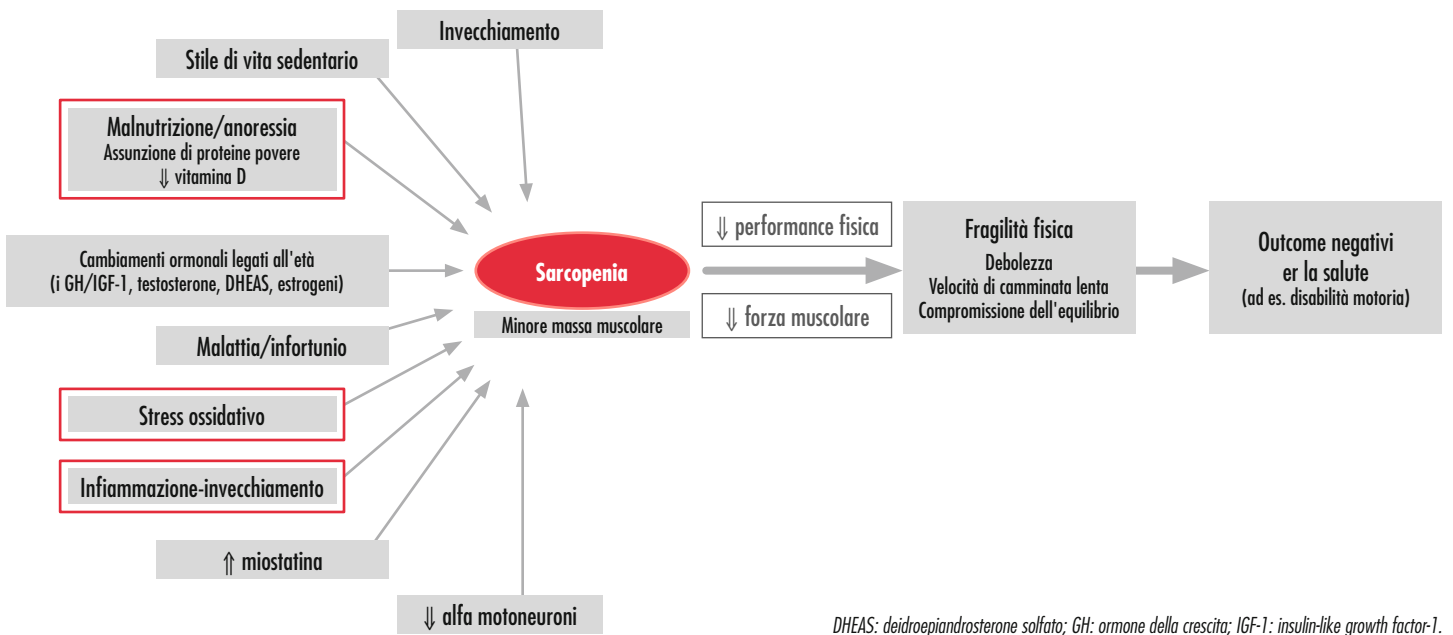


FIGURA 2.

Sotto-nutrizione, sarcopenia e fragilità.

caso del *Lactobacillus Plantarum* LPO1 che favorisce un rapporto positivo fra citochine pro- e antiinfiammatorie, del *Lactobacillus Buchneri* Lb26 che aumenta la biodisponibilità del selenio, importanti per la salute del muscolo ⁷, o del *bifidobatterio animalis* specie *lactis* BSO5 dotato di proprietà antiossidanti che dovrebbero promuovere una protezione della sarcopenia, considerato che l'ossidazione è fra i meccanismi che la favoriscono.

In qualche modo la composizione genetica del microbiota potrebbe rappresentare uno dei meccanismi in grado di modificare la longevità: se l'omeostasi del microbiota intestinale influenza la salute dell'ospite e l'invecchiamento, lo sviluppo di probiotici geneticamente ingegnerizzati potrebbe rappresentare un nuovo paradigma terapeutico per promuovere un invecchiamento in salute. Una modulazione personalizzata, anche in base all'età, del microbiota potrà portare all'obiettivo di mantenere un profilo microbico tale da offrire le maggiori probabilità di prevenire le malattie e promuovere la salute muscolare.

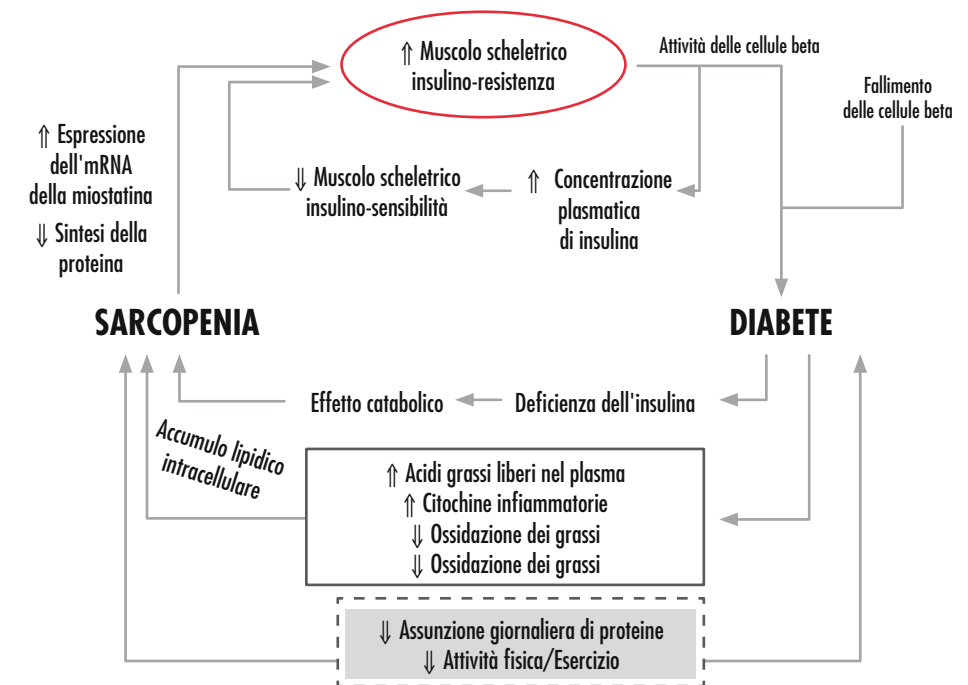


FIGURA 3.

Interazione tra sarcopenia e diabete (da Landi et al., 2013, mod.) ⁴.

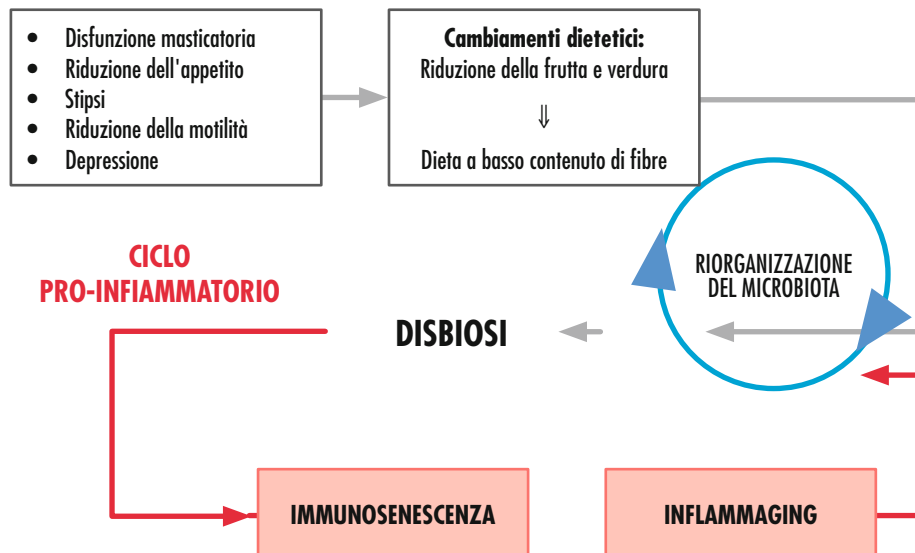
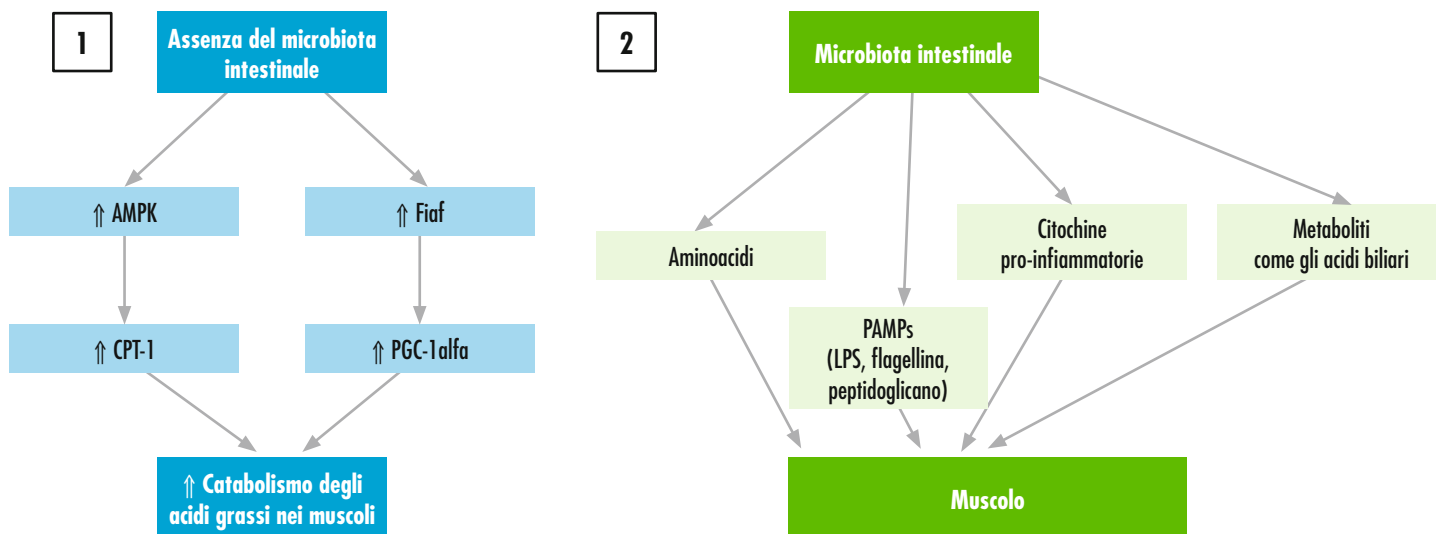


FIGURA 4.

L'invecchiamento influisce inevitabilmente sul microbiota intestinale (da Candela et al., 2013, mod.) ⁵.



AMPK: AMP-activated protein kinase; CPT-1: carnitine palmitoyltransferase; PGC-1alpha: peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivators 1-alpha; PAMPs: pathogen associated molecular patterns; LPS: lipopolisaccaride; Fiaf: fasting-induced adipose factor.

FIGURA 5.

Atrofia muscolare: il microbiota intestinale come nuovo bersaglio terapeutico (da Bindels e Delzanne, 20132, mod.) ⁶.

Bibliografia

- ¹ Landi F, Calvani R, Tosato M, et al. Age-related variations of muscle mass, strength, and physical performance in community-dwellers: results from the milan EXPO survey. JAMDA 2017;18:88e17-24.
- ² Landi F, Cherubini A, Cesari M, et al. Sar-

- copenia and frailty: from theoretical approach into clinical practice. Eur Geriatr Med 2016;7:197-200.
- ³ Calvani R, Miccheli A, Landi F, et al. Current nutritional recommendations and novel dietary strategies to manage sarcopenia. J Frailty Aging 2013;2:38-53.
- ⁴ Landi F, et al. JAMDA 2013.

- ⁵ Candela M, et al. Mech Ageing Dev 2013.
- ⁶ Bindels LB1, Delzenne NM. Muscle wasting: the gut microbiota as a new therapeutic target? Int J Biochem Cell Biol 2013;45:2186-90.
- ⁷ Mogna L et al. J Clin Gastroenterol 2012; 46:S1-S45

RUOLO DEL MICROBIOTA NELLE MALATTIE RENALI

Carmela Cosola

Biologa, Università di Bari "Aldo Moro", Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti di Organo – Sezione di Nefrologia, Dialisi e Trapianti

La relazione fra microbiota e malattia renale cronica (MRC) è nota da tempo. Con la perdita progressiva della sua funzione il rene perde la capacità di eliminare sia le sostanze provenienti dal metabolismo umano, sia quelle del suo simbionte, il microbiota intestinale. Alcune di queste sostanze sono annoverate nella categoria delle tossine uremiche: tra quelle di derivazione intestinale le principali e più studiate sono p-cresil solfato (PCS) e indossile solfato (IS). Oltre alla loro tossicità nella MRC, causata dall'accumulo in circolo, esse possiedono una forte avidità per l'albumina, per cui non vengono eliminate efficacemente dalla dialisi e contribuiscono ad aggravare l'intossicazione uremica nel paziente dializzato. Si comprende perciò come in nefrologia sia molto sentita la necessità non solo di aumentarne la clearance dialitica, ma anche di ridurre la produzione. E qui entra in gioco anche il microbiota intestinale la cui composizione, nei pazienti con MRC, è completamente diversa da quella del soggetto sano¹: tale squilibrio è denominato "disbiosi". La disbiosi indotta dall'uremia è riconducibile a una serie di fattori: col declino della funzione renale il colon assume il ruolo di organo emuntore e l'escrezione di urea nello stesso modifica il microambiente chimico. Il conseguente innalzamento del pH del colon esercita una pressione selettiva a favore di specie ureasi-positive, che sono responsabili della conversione dell'urea in ammoniaca. Ciò determina una degradazione dello strato protettivo di muco e un'alterazione della permeabilità intestinale per distruzione delle tight junction. In conseguenza di ciò si ha il passaggio di materiale batterico attraverso la mucosa e l'attivazione di un meccanismo infiammatorio cronico locale e sistemico, dovuto alla traslocazione di frammenti batterici in circolo, come indica la presenza ematica di DNA batterico delle specie intestinali, evidenziata da alcuni studi scientifici^{2,3}. A seconda del substrato che i batteri utilizzano per ricavare energia, il microbiota può seguire due vie metaboliche principali, saccarolitica o proteolitica. In un intestino in sa-

lute dovrebbe prevalere la prima; tuttavia, in caso di squilibri alimentari caratterizzati da carenza di carboidrati complessi, la mancanza di substrato disponibile per la fermentazione favorisce lo sbilanciamento verso la seconda via, nella quale i batteri utilizzano gli aminoacidi non con funzione anabolica, ma a scopo energetico, con conseguente produzione delle tossine uremiche. Ovviamente è opportuno che la bilancia tra fermentazione saccarolitica e putrefazione proteolitica sia a favore della prima, a causa dei diversi effetti fisiologici dei metaboliti a valle delle due vie. Con la fermentazione saccarolitica si ha la produzione di acidi grassi a catena corta che, oltre a inibire la crescita dei patobionti, sono dotati di un'azione trofica per l'epitelio del colon e di un'azione endocrina locale e sistemica. Sono anche caratterizzati da un'attività antinfiammatoria, esercitata in modo diretto sia tramite un signaling su alcune cellule immuni

tra cui i neutrofili, sia grazie all'induzione, attraverso meccanismi epigenetici, del differenziamento dei linfociti T Reg con attivazione di un fenotipo tolerogenico, piuttosto che proinfiammatorio. L'azione antinfiammatoria è anche indiretta, attraverso la upregolazione delle tight junction, fenomeno che migliora la funzionalità della barriera intestinale con conseguente azione antinfiammatoria sistemica. Al contrario, i prodotti della putrefazione proteica inducono effetti tossici: i metaboliti più studiati sono PCS, IS e TMAO (*trimethylamine N-oxide*).

Quest'ultimo è un derivato del catabolismo di prodotti essenzialmente di origine animale, contenenti colina, fosfatidilcolina, carnitina e betaina. Il PCS e l'IS, che nei pazienti con MRC raggiungono livelli anche 100 volte superiori rispetto al soggetto sano, derivano invece dalla degradazione degli aminoacidi aromatici, quali triptofano, fenilalanina e tirosina⁴. Queste sostanze sono caratterizzate da un'attività pro fibrotica, proinfiammatoria e di induzione di stress ossidativo a livello renale, ma soprattutto a livello cardiovascolare. A complicare le cose c'è poi il fatto che nella MRC, a causa delle alterate condizioni biochimiche del colon già descritte, si ha un'espansione delle popolazioni batteriche proteolitiche e una riduzione di quelle protettive saccarolitiche, che favoriscono un circolo vizioso di au-

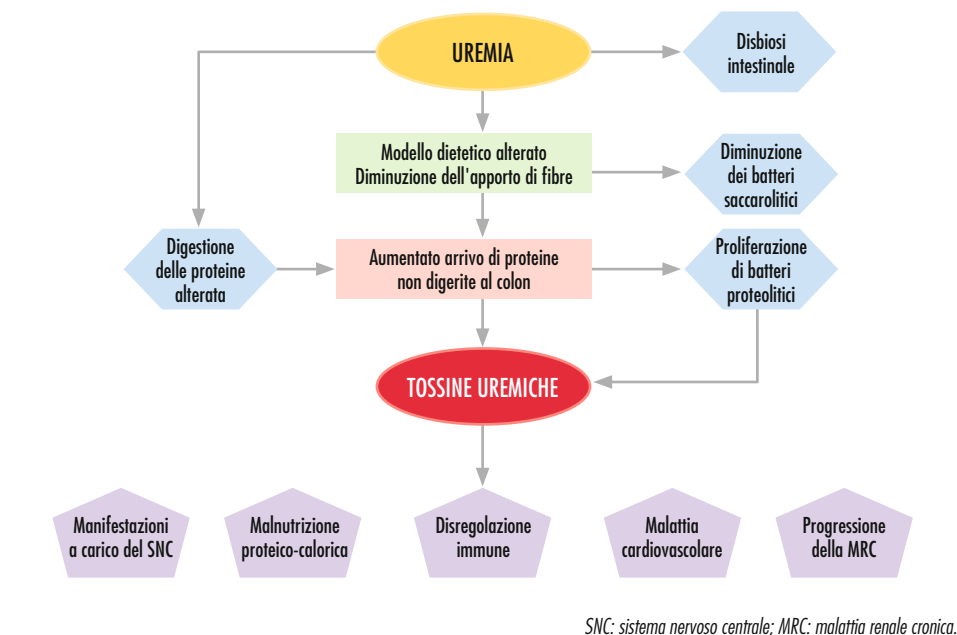


FIGURA 1.

Uremia, dieta e disbiosi del microbiota (da Ramezani et al., 2016, mod.)⁵.

mentata produzione delle tossine uremiche intestinali. Oltretutto la disbiosi è peggiorata dalla tradizionale gestione nutrizionale del paziente nefropatico, soprattutto negli stadi più avanzati, che prevede una stretta restrizione delle fibre, con ulteriore sbilanciamento del metabolismo microbico in direzione proteolitica (Fig. 1).

La riduzione delle fibre diminuisce infatti il substrato per la fermentazione saccarolitica; le fibre favoriscono inoltre il transito intestinale il cui rallentamento costituisce un fattore di rischio per lo sviluppo della MRC, dato che un aumentato transito favorisce, fra le altre cose, l'escrezione dei composti azotati.

Nella MRC, il microbiota deve essere perciò considerato un nuovo fattore di rischio non tradizionale, che può essere modificato grazie per esempio all'inserimento di fibre nell'alimentazione, come avviene per esempio nel caso della dieta mediterranea. Quest'ultima, anche se non è tradizionalmente considerata ottimale per il paziente nefropatico, è una dieta naturalmente prebiotica, capace di spostare l'equilibrio in direzione saccarolitica, oltre a contenere composti nutraceutici dalle capacità antiossidanti e antinfiammatorie ⁶.

Nella MRC, l'alimentazione ideale è rappresentata dalla restrizione di proteine e sale, e da un buon introito di fibra alimentare. Spetta al dietista specializzato la personalizzazione di tale dieta sulla base delle caratteristiche cliniche e nutrizionali di ogni singolo paziente. In linea generale, questo tipo di trattamento dietetico-nutrizionale comporta parecchi potenziali benefici, confermati dalla letteratura scientifica ⁷: contrasto alla disbiosi intestinale, aumento degli acidi grassi a catena corta a livello del colon, riduzione della permeabilità intestinale, maggiore potere alcalinizzante, diminuzione della produzione di tossine uremiche, miglioramento del transito intestinale, effetti benefici in termini di riduzione della creatininemia e dell'azotemia.

Esiste una correlazione tra i livelli di tossine uremiche intestinali e la progressione della MRC verso la dialisi. L'auspicio è che, con una corretta gestione nutrizionale, unita ove necessario all'integrazione simbiotica, si possa rallentare la progressione della malattia, con notevoli ricadute positive sulla qualità e aspettativa di vita del paziente nefropatico e sulla riduzione dei costi sanitari associati al trattamento dialitico.

Bibliografia

- ¹ Vaziri ND, Wong J, Pahl M, et al. *Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora*. *Kidney Int* 2013;83:308-15.
- ² Anders HJ, Andersen K, Stecher B. *The intestinal microbiota, a leaky gut, and abnormal immunity in kidney disease*. *Kidney Int* 2013;83:1010-6.
- ³ Wang F, Jiang H, Shi K, et al. *Gut bacterial translocation is associated with microinflammation in end-stage renal disease patients*. *Nephrology (Carlton)* 2012;17:733-8.
- ⁴ Sirich TL, Funk BA, Plummer NS, et al. *Prominent accumulation in hemodialysis patients of solutes normally cleared by tubular secretion*. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:615-22.
- ⁵ Ramezani A, Massy ZA, Meijers B, et al. *Role of the gut microbiome in uremia: a potential therapeutic target*. *Am J Kidney Dis* 2016;67:483-98.
- ⁶ Montemurno et al *Kidney Blood Press Res* 2014
- ⁷ Cupisti A, D'Alessandro C, Gesualdo L, et al. *Non-traditional aspects of renal diets: focus on fiber, alkali and vitamin K1 intake*. *Nutrients* 2017;9(5). pii: E444.

Direttore Responsabile
Patrizia Alma Pacini

Edizione
Pacini Editore S.r.l.
Via Gherardesca 1 • 56121 Pisa
Info@pacinieditore.it • www.pacinimedica.it
050 313011 • 050 3130300

Redazione
Lucia Castelli • lcastelli@pacinieditore.it

Grafica e impaginazione
Massimo Arcidiacono • marcidiacono@pacinieditore.it

Stampa
Industrie Grafiche Pacini • Pisa

© Copyright by Pacini Editore Srl

Finito di stampare presso le IGP, Pisa, Marzo 2018

Registrazione al tribunale n. 6/2017 del 30-5-2017 nel Registro della Stampa presso il Tribunale di Pisa

Cod. xxxxxxxxx