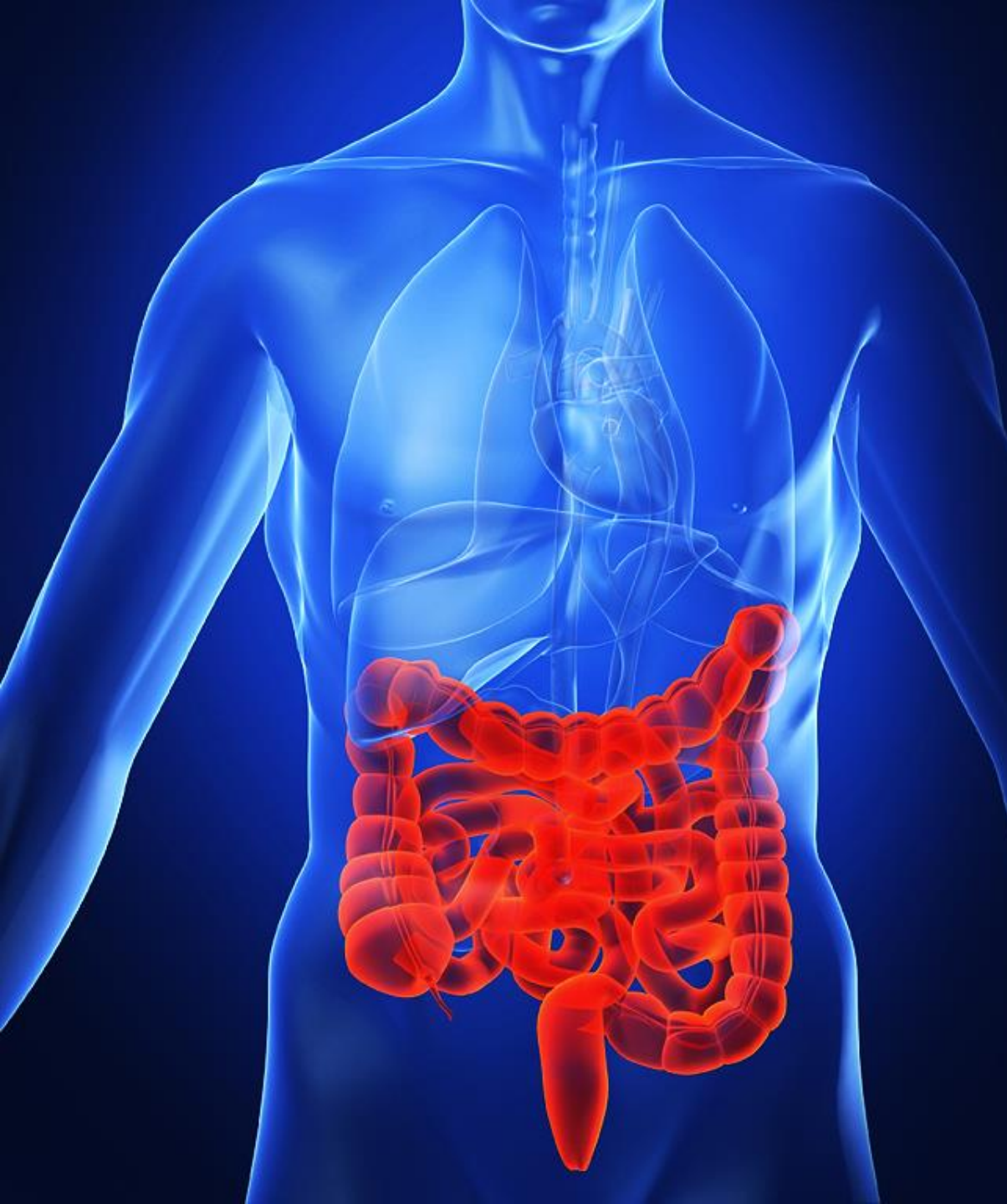
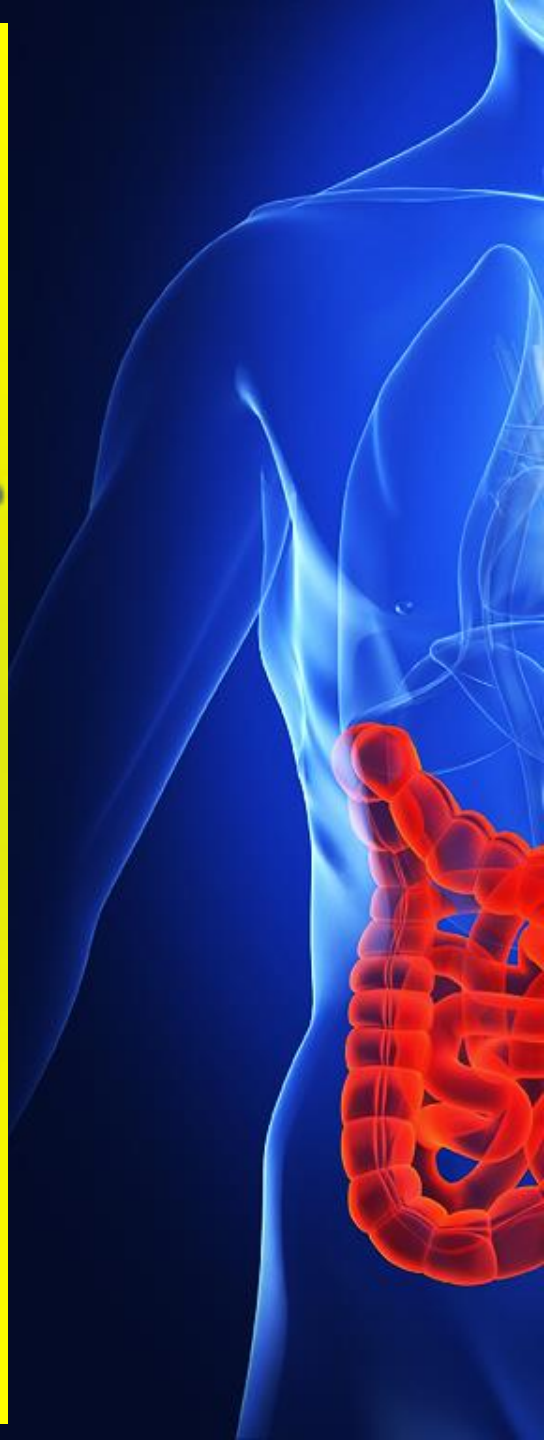
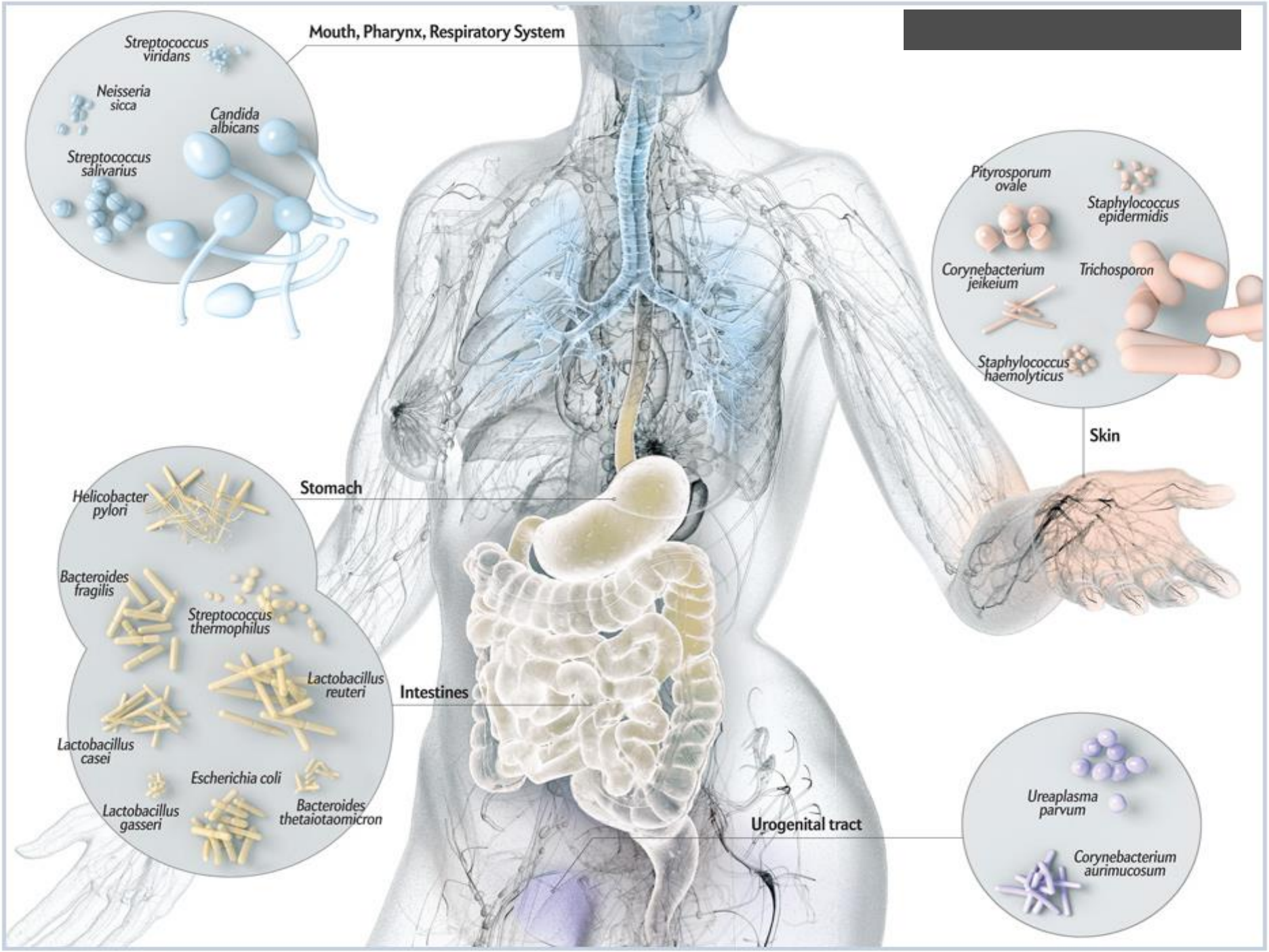


Microbiota intestinale

Dott. Marco Mancini

Coopera con il sistema immunitario
Barriera contro patogeni
Assorbimento nutrienti
MICROBIOTA
Conservazione della funzione intestinale
Diverse funzioni nel metabolismo




Mouth, Pharynx, Respiratory System
Streptococcus viridans
Neisseria sicca
Candida albicans
Streptococcus salivarius
Pityrosporum ovale
Staphylococcus epidermidis
Corynebacterium jeikeium
Trichosporon
Staphylococcus haemolyticus
Skin
Stomach
Helicobacter pylori
Bacteroides fragilis
Streptococcus thermophilus
Lactobacillus reuteri
Intestines
Lactobacillus casei
Escherichia coli
Lactobacillus gasseri
Bacteroides thetaiotaomicron
Urogenital tract
Ureaplasma parvum
Corynebacterium aurimucosum

Cosa si deve sapere….

Cos’è innazitutto……..

Siamo entrati da un pezzo nel terzo millennio. Scienza e tecnologia hanno fatto passi da gigante. Eppure tante cose rimangono ancora da chiarire.

Trilioni di cellule microbiche popolano il nostro organismo (è un fatto che credo faccia rabbrividire i maniaci del pulito). Li raggruppiamo tutti sotto il nome di microbiota. Si parlerà invece di microbioma quando vogliamo intendere l’insieme dei geni di tutti i microrganismi che abitano in noi. Conoscere questo microscopico mondo nella sua complessità ci aiuterà a ridefinire il concetto stesso di salute e di malattia.

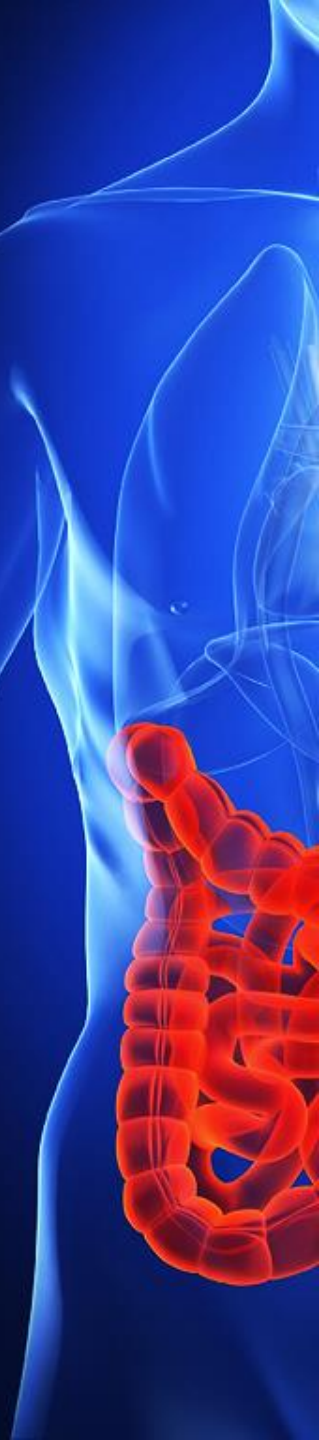
Il Progetto Genoma Umano, il cui scopo era quello di sequenziare l’intero DNA della nostra specie e di mappare i geni che compongono il nostro genoma, è stato portato a termine oramai 15 anni fa. Si pensava che conoscendo a fondo la nostra genetica avremmo potuto trovare la cura per molte malattie. Ma le nostre aspettative sono state deluse. Tanto per cominciare si pensava che la specie umana possedesse centinaia di migliaia di geni. Ne sono stati trovati invece circa 30.000! Una pianta ne possiede 28.000, un verme 18.000. Per alcuni questa differenza non è sufficiente a spiegare la complessità dell’organismo umano rispetto a forme di vita più semplici.

E non è finita qui! Il nostro DNA è per il 99,99% identico a quello di qualsiasi altro essere umano per quanto differente possa esserne l'aspetto. Al contrario **il nostro microbiota intestinale somiglia a quello di altri individui della nostra specie solo per il 10%!**

È un'osservazione che diventa ancora più sbalorditiva se pensiamo ai nostri 30.000 geni codificanti proteine a fronte dei 2-20 milioni di geni provenienti dal nostro microbiota (Per inciso ciascuno di noi è fatto da circa 3 trilioni di cellule mentre i nostri microbi sono un centinaio di trilioni. Loro sono in vantaggio di 97 trilioni)!!! In altri termini, **geneticamente parlando, siamo "umani" solo per l'1%, per il 99% siamo "microbici"**!

Potremmo forse concludere che alla base della nostra diversità non ci sono i geni ma i batteri?!

E allora la domanda è: **quanta responsabilità hanno i nostri batteri nel fatto che ad un certo punto diventiamo insulino-resistenti e poi diabetici, oppure allergici, dis-lipidemici, ipertesi, obesi, depressi?**



Non nasciamo nudi……..

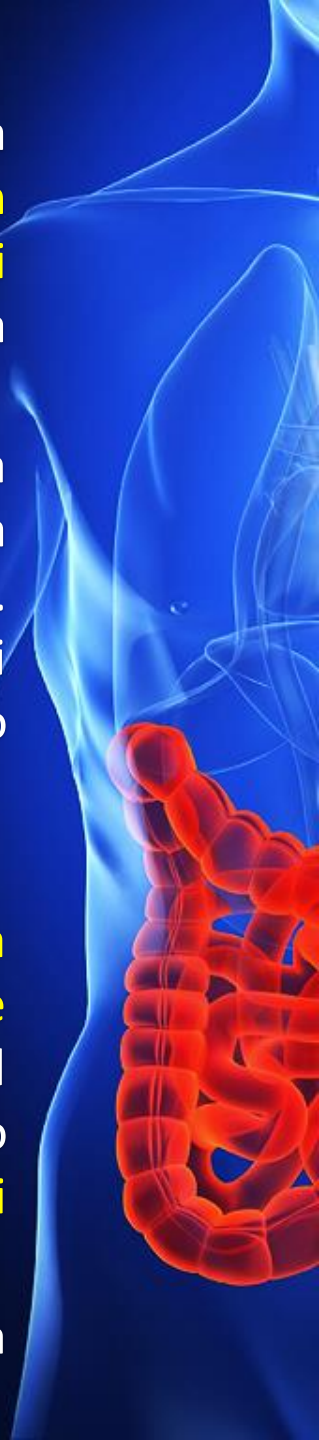
Ognuno di noi ha ereditato i suoi batteri dalla propria mamma durante il passaggio attraverso il canale del parto. Dunque non nasciamo nudi ed indifesi ma ricoperti di uno strato di microbi che poi sono gli stessi dell'ambiente vaginale materno. È la nostra prima difesa contro le aggressioni provenienti dall'esterno!

Si tratta di una vera e propria simbiosi mutualistica venutasi a costituire milioni di anni fa. Il *mutualismo* in biologia è la coesistenza di specie differenti con vantaggio reciproco per gli individui associati. Quindi i nostri microbi hanno "scelto" di "abitare in noi" perché ci stanno bene: il giusto pH, la giusta temperatura e umidità, il cibo migliore!

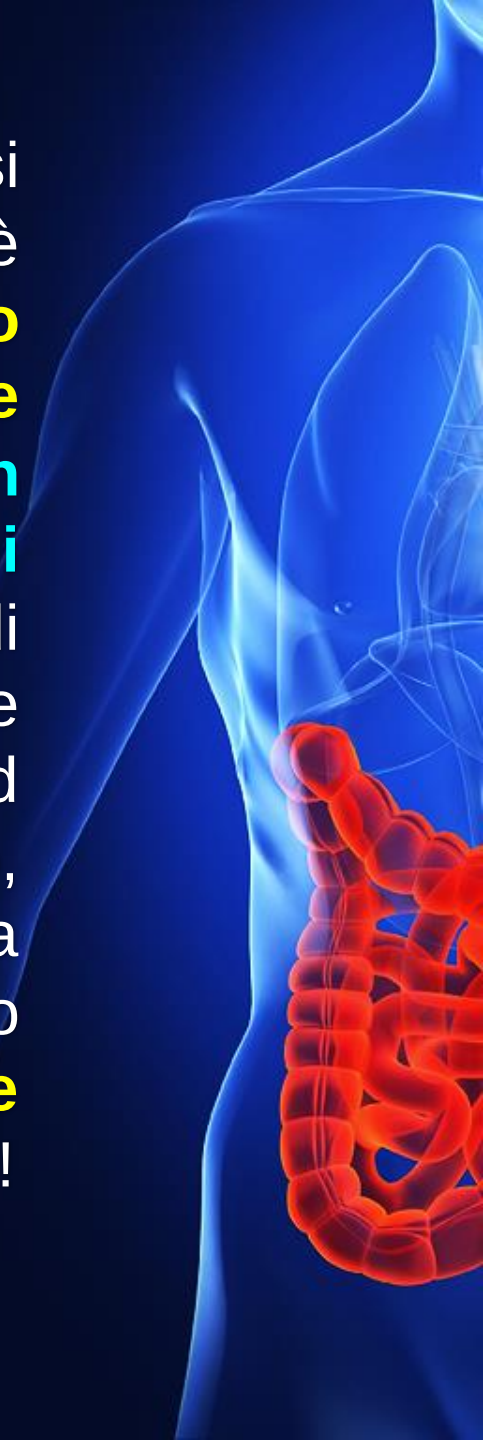
Ma anche noi abbiamo il nostro tornaconto ad ospitarli!

Sembrerebbe ad esempio che in corso di gestazione il microbiota materno si modifichi sapientemente in modo da far prevalere alcune specie a discapito di altre. Così i batteri del genere *Lactobacillus,* diventando più abbondanti, consentirebbero alla mamma di estrarre maggior energia dal cibo allo scopo di garantire la miglior crescita del feto.

Ma se tutto ciò è vero che cosa succede a quei bimbi che nascono da un parto cesareo?



A differenza degli adulti che presentano diversi ecosistemi microbici, il microbiota dei neonati è molto più semplice. **Quelli nati con un parto naturale hanno le stesse specie microbiche dell'ambiente vaginale**, **quelli nati da un parto cesareo hanno invece i microbi presenti normalmente sulla pelle**. Si tratta di due comunità microbiche, quella vaginale e quella cutanea, profondamente differenti! Ed ecco che i nati con parto cesareo, probabilmente a causa di una anomala stimolazione del Sistema Immunitario, finiscono con il soffrire più spesso di **asma**, **allergie alimentari** ed altre **atopie**, e perfino di **obesità**!



Il tratto gastrointestinale è colonizzato da una complessa comunità di microrganismi il cui ruolo è anche quello di regolare il metabolismo dell'ospite e la funzionalità del Sistema Immunitario. Ai fini di determinare gli effetti dei microbi sulla nostra fisiologia gli scienziati hanno fatto ricorso ai topi *germ free (GF).* Dopo essere stati fatti nascere da un parto cesareo, i topi *germ free* vengono allevati all'interno di apposite camere sterili. Così è stato possibile scoprire che i topi che non hanno un microbiota intestinale posseggono un Sistema Immunitario poco sviluppato, una reattività *Th2* elevata e risposte *Th1/Th17* e *Treg* ridotte. La risposta *Th2* è orientata in senso anticorpale ed è tipica delle malattie allergiche.

Sarà un caso se tra i bambini nati da parto cesareo e allattati artificialmente (e dunque dotati di un microbiota non ottimale) l'incidenza delle malattie allergiche è superiore alla norma?

La cosa interessante è che la colonizzazione dei topi GF con una flora batterica convenzionale riduce la risposta Th2, aumenta le risposte Th1/Th17 e il numero delle cellule T regolatorie… riportando in asse la bilancia del Sistema Immunitario. In definitiva abbiamo scoperto che il microbioma intestinale è un importante regolatore della nostra immunità e non solo di quella.

Il microbiota umano è presente in diversi comparti del nostro organismo e non solo nell'intestino, come erroneamente si pensa. Lo troviamo infatti:

- Occhi, bocca
- Capelli
- Vie aeree superiori e inferiori, apparato urogenitale
- **Placenta (recentemente scoperto nel 2014). Addirittura sembra essere simile per un 70% a quello residente nel cavo orale (Escherichia, Prevotella, Neisseria).**

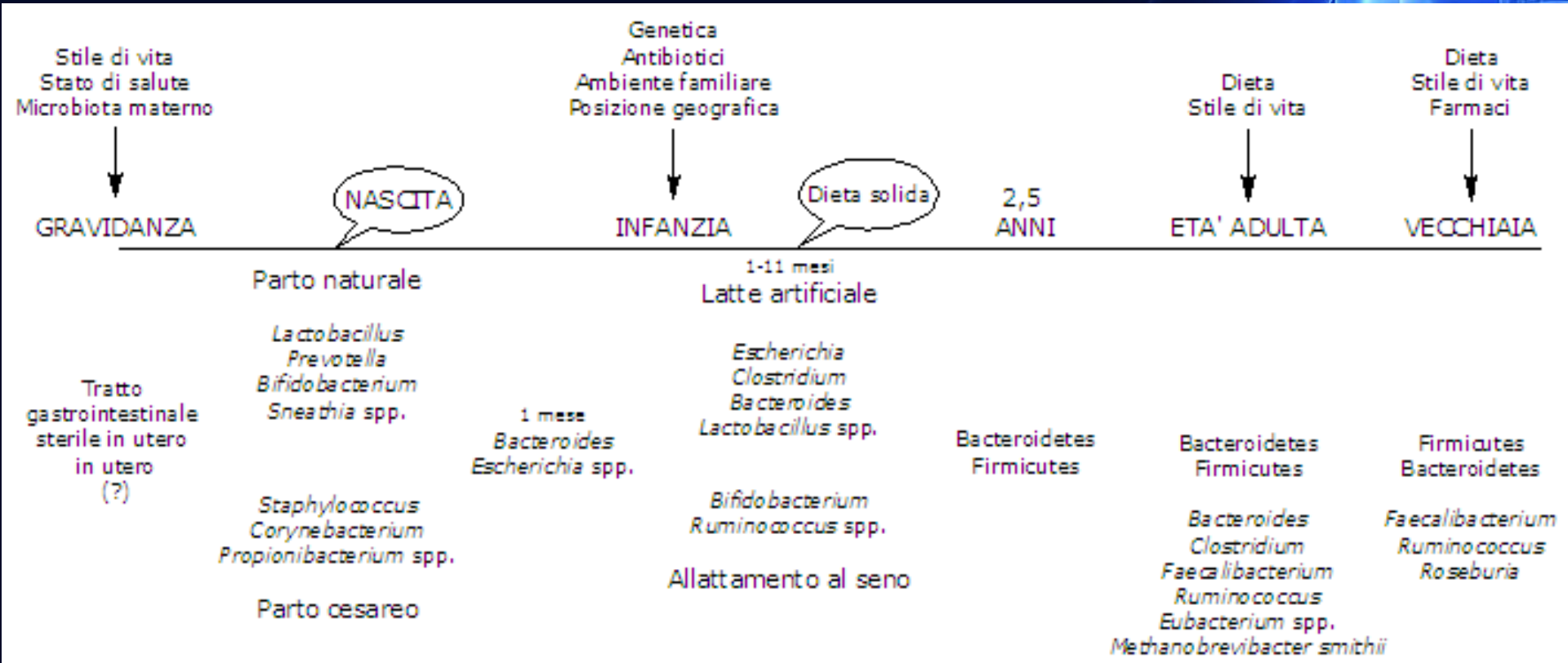
Il microbiota cutaneo e quello urogenitale sono molto simili tra loro. Il microbiota intestinale e quello della bocca si separano invece dal gruppo.

Alla nascita il microbiota del neonato è molto simile a quello materno (dettato dal passaggio nel canale del parto). Tra i 3 -6 anni il microbiota del bambino è molto simile a quello dell'adulto.

Abbiamo visto come alla nascita la colonizzazione iniziale, grazie a minime tracce di O_2 prevede la colonizzazione anche da parte di E. coli. Questo batterio si è stimato contenga 4300 geni (e l'intera popolazione di esso, circa 100.000 geni). *Questo fenomeno lo rende ubiquitario in varie sedi dell'organismo in corso di disbiosi* (varianti di E. coli sono state trovate in alcune forme di K intestinale). E. coli, Bacteroides, Fusobacterium nucleatum **sono potenzialmente capaci di produrre tossine in grado di promuovere l'insorgenza del cancro.**

L'anaerobiosi è la condizione fisiologica preponderante nell'intestino dell'uomo sin dai primi giorni di vita, in cui la colonizzazione avviene principalmente ad opera di due probiotici fondamentali, e cioè *bifidobatteri* e *lattobacilli* (specie di provenienza materna), a cui si aggiunge una piccola quota di E. coli, per la debole presenza di O_2 (aerobiosi) nell'intestino del neonato.

Composizione del microbiota intestinale umano nel corso della vita

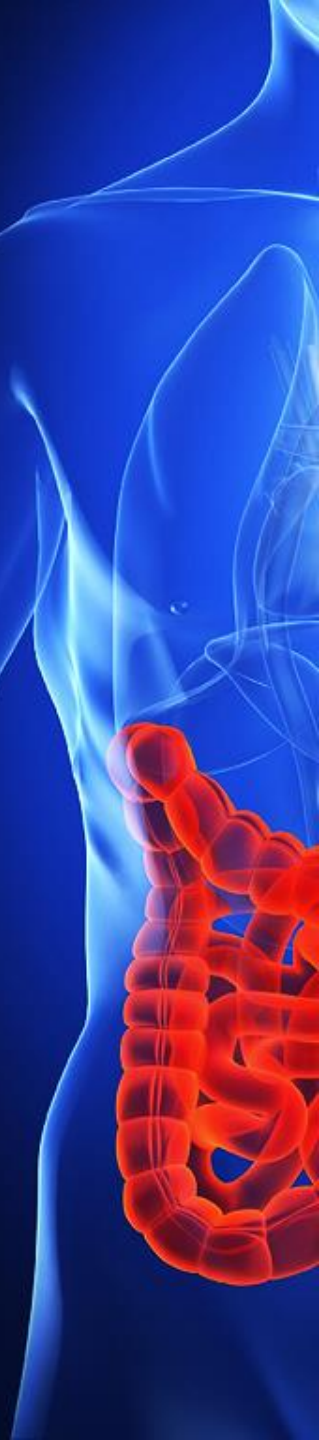


Questo assunto risulta ancora più vero alla luce dell'esistenza del microbiota intestinale!

Così nelle persone che mangiano tanta carne prevalgono i *Bacteroides* mentre **in quelli che si nutrono in abbondanza di cereali i più rappresentati sono i batteri del genere *Prevotella***. Se mettiamo a confronto la popolazione americana con il suo alto consumo di carne con i contadini del Malawi che mangiano mais o con i venezuelani che si nutrono di cassava è evidente la prevalenza in questi ultimi due gruppi del genere *Prevotella*!

E ancora, i Giapponesi si sono adattati al consumo di pesce crudo albergando nel loro intestino specie di *Bacteroides* normalmente presenti in ambiente marino. Ovviamente noi italiani ne siamo sprovvisti e quindi male ci adattiamo a digerire sushi e sashimi!

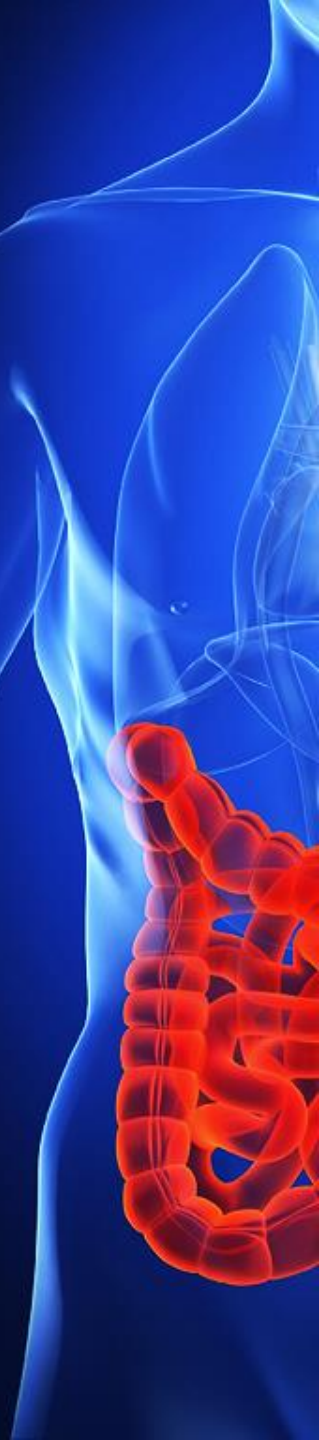
Anche l'ambiente domestico, con il suo bel carico di microrganismi, contribuisce a far maturare il microbiota di ogni nuovo nato. La stessa Natura che ha predisposto che si nascesse per via vaginale e che si venisse alimentati attraverso il seno della mamma, ha indotto nei nostri cuccioli un comportamento istintivo che li porta ad esplorare il mondo circostante portando tutto alla bocca. Le mamme inorridiscono quando vedono i loro piccoli mettersi le dita in bocca subito dopo aver esplorato le cavità nasali!



Ma sono le stesse mamme che si sono impegnate a sterilizzare ogni singolo angolo della casa in vista del parto e della venuta a casa del nuovo nato!

Siamo alla fine degli anni ’80 quando *David Strachan* della *St. George’s Hospital Medical School* (*Univesrity of London*) elaborò la sua “**ipotesi igienica**”. *Strachan* aveva notato che i fratelli più piccoli che crescevano in famiglie numerose avevano una minor incidenza di malattie allergiche. Pensò dunque che il fatto di entrare in contatto, fin dalla più tenera età, con agenti infettivi trasmessigli dai fratelli più grandi potesse aiutare il Sistema Immunitario a reagire contro dei nemici veri e non contro gli acari della polvere.

In altri termini l’“ipotesi igienica” suggerisce che vivere in un’eccessiva igiene può portare a sviluppare problemi immunologici. Dal momento che i nostri macrofagi, i nostri neutrofili e i nostri linfociti non hanno modo di confrontarsi con gli agenti patogeni, virali e batterici, con i quali ci siamo coevoluti, il Sistema Immunitario finisce con il reagire contro antigeni normalmente innocui (vedi il polline, gli acari della polvere, il pelo del gatto).

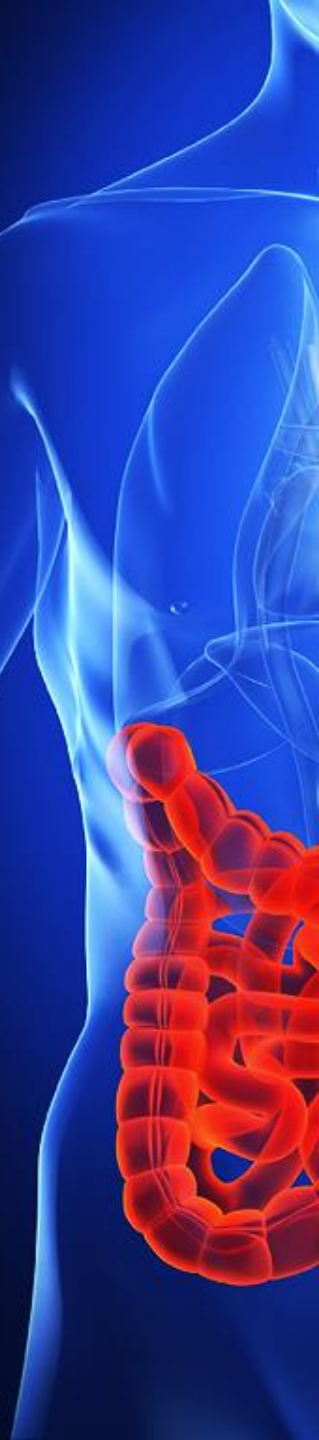


E ancora…….

Microbiota e microbioma sono due termini spesso usati come sinonimi. Ma non lo sono. Nella maggior parte dei casi questo utilizzo “intercambiabile” non compromette la comprensione del testo, tuttavia è importante riflettere sulla profonda differenza di significato tra le due parole.

Microbiota si riferisce a una popolazione di microrganismi che colonizza un determinato luogo. **Il termine microbioma invece indica la totalità del patrimonio genetico posseduto dal microbiota, cioè i geni che quest’ultimo è in grado di esprimere.**

“Nemici” di microbiota e microbioma sono gli antibiotici. Questi infatti, se da un lato impediscono il proliferare dei patogeni e lo sviluppo di malattie infettive, dall’altro compromettono la normale popolazione batterica che risiede soprattutto nell’intestino, la quale svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento dello stato di salute dell’organismo ospitante.



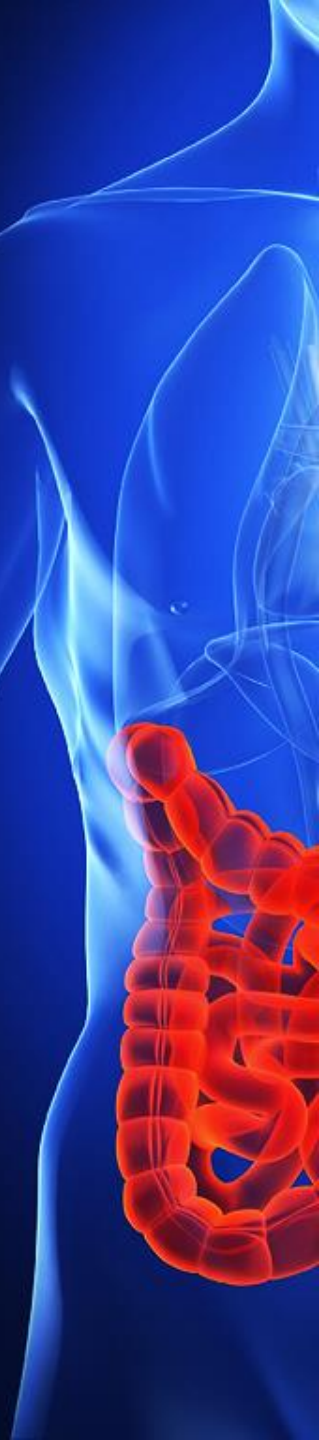
Il microbiota

Quando si parla di microbiota si fa riferimento alla totalità dei singoli microrganismi: batteri, funghi, archeobatteri, protozoi e dei virus che vivono e colonizzano uno specifico ambiente in un determinato tempo. Metaforicamente si può dire che un **microbiota è come uno scatto fotografico che immortala una popolazione di organismi microscopici residenti in uno spazio delimitato a un istante scelto arbitrariamente**.

Di conseguenza, il microbiota di un essere umano è solo una delle infinite fotografie in cui è possibile suddividere la vita microscopica del pianeta.

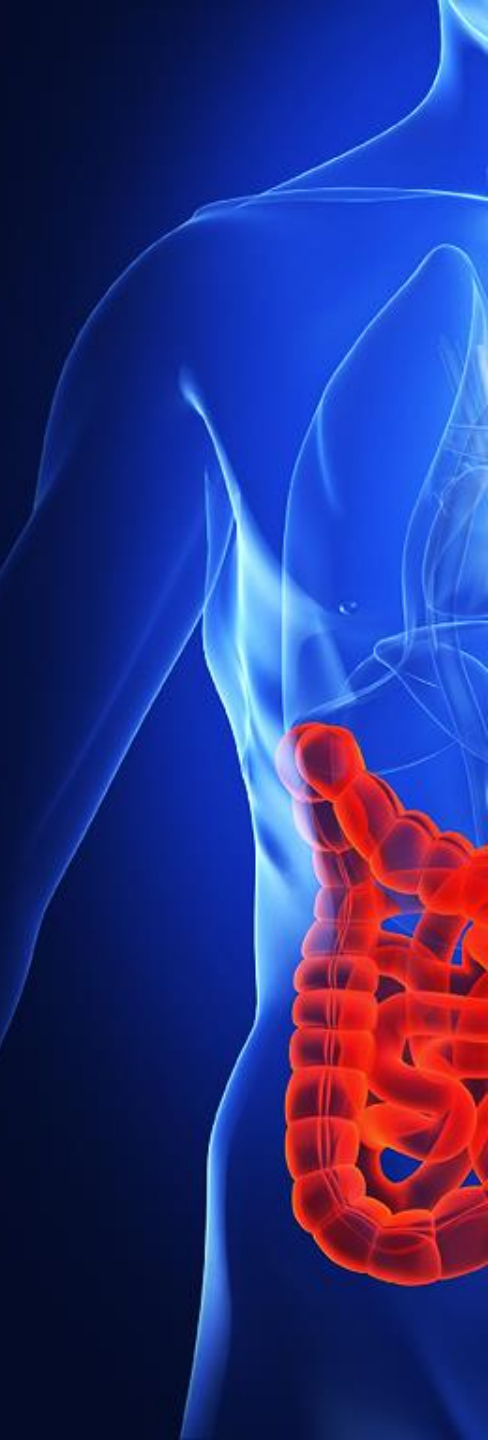
Il microbiota umano è definito come «*l'insieme dei microrganismi che in maniera fisiologica, o talvolta patologica, vivono in simbiosi con il corpo umano*». Questa popolazione microbica è concentrata per lo più nel tratto intestinale. Tutto il corpo però, tranne il cervello e il sistema circolatorio, secondo recenti stime ospita un totale di circa 38.000 miliardi di batteri. I **phyla** più abbondanti sono ***Firmicutes*** e ***Bacteroidetes***.

L'influenza del microbiota nella regolazione dell'attività metabolica è oggi riconosciuta con sempre più evidenze a supporto. Allo stesso modo, è stato scoperto anche un impatto del microbiota sugli stati psicologici per via dell'influenza sull'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e sul sistema serotoninergico. Un'altra caratteristica del microbiota umano è il ruolo nello sviluppo del sistema immunitario durante la prima parte dell'infanzia e, di conseguenza, sullo stato di infiammazione del corpo.

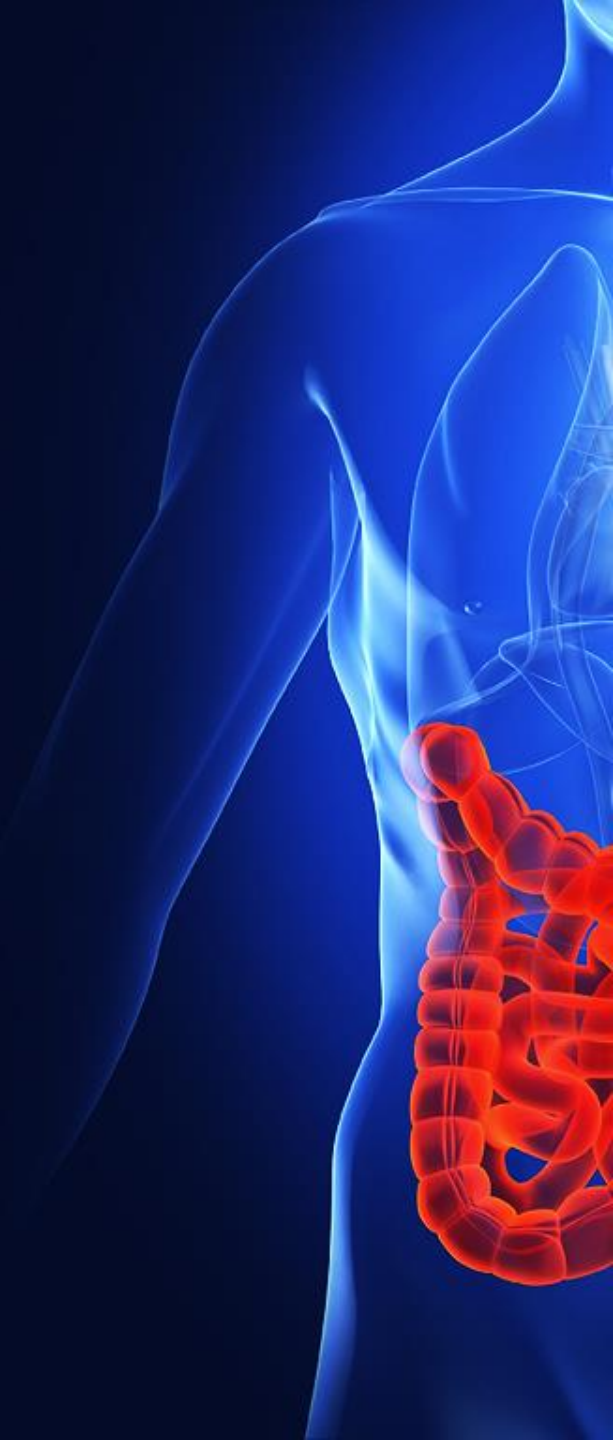


Se oggi possiamo studiare (sebbene solo per quanto riguarda la parte batterica) la composizione del microbiota lo dobbiamo alla metagenomica, la quale basa le proprie indagini sul microbioma.

In particolare, l'esame in grado di indagare la popolazione batterica è il sequenziamento genomico del 16S-rRNA, un gene dell'RNA specifico di ogni batterio che serve a produrre i ribosomi, responsabili della sintesi proteica. Identificarlo significa risalire alla singola specie batterica.



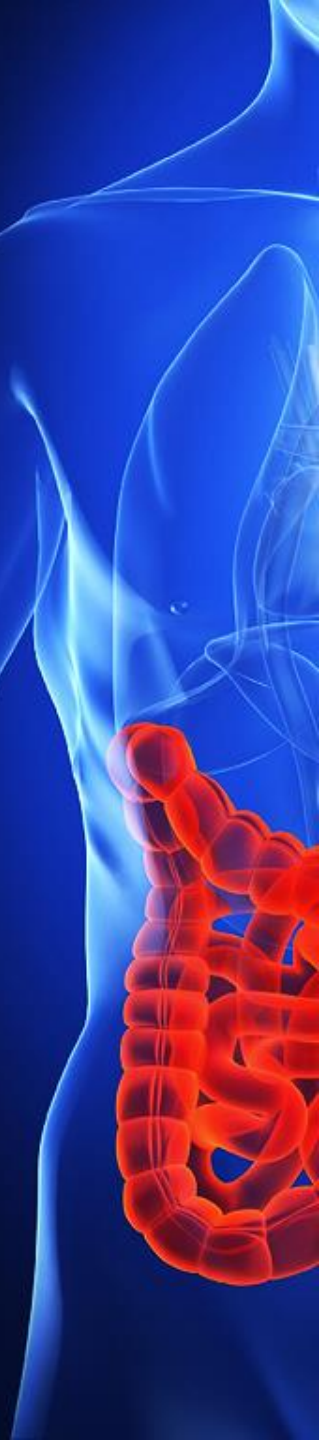
Negli ultimi decenni sono emersi concetti come microbioma, microbiota, assi di relazione intestino-cervello, intestino-fegato, ecc. Ultimo arrivato, ma non meno importante, è lo straordinario concetto di viroma (presenza stabile di diversi virus nel nostro organismo). Il viroma interagisce con il microbiota e il genoma umano e tutti si relazionano tra di loro, portando vantaggi e svantaggi alla salute dell'ospite. Lo studio del viroma si profila interessante e denso di implicazioni fisiopatologiche e terapeutiche, ma per il momento siamo solo agli inizi.



Co-evoluzione con Herpes virus

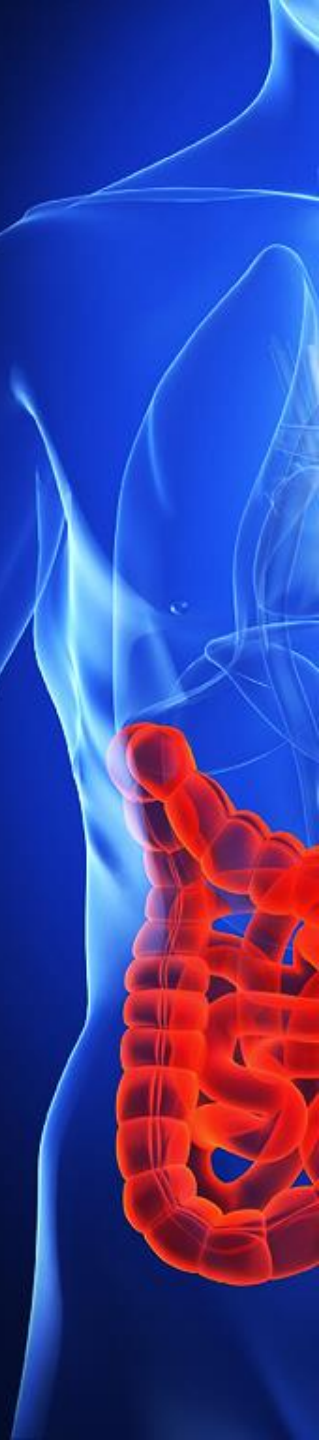
•

Le infezioni da herpesvirus costituiscono un'inevitabile parte della condizione umana, dato che ne soffre oltre il 90% dei soggetti. I virus erpetici infettano uccelli, rettili e mammiferi e si sono co-evoluti fin dall'inizio come linee specie-specifiche. Subito dopo la prima infezione, il virus adotta uno stato di sonno, cioè si mette in una condizione di latenza, attraverso l'espressione di un set alternativo di geni che inibisce le sue funzioni litiche centrali (uno dei due cicli di riproduzione virale). La latenza permette al virus di nascondersi dal sistema immunitario e di rimanere all'interno dell'ospite. Per esempio, dopo l'infezione acuta, il virus herpes simplex 1 (HSV-1) si riproduce nelle cellule epiteliali, poi migra attraverso neuroni sensori ed entra in uno stato di latenza nella sua roccaforte costituita dai **gangli trigeminali**. La latenza rende l'ospite vulnerabile a successive riattivazioni del virus e quindi ad infezioni nei siti periferici (labbra, occhi, encefalo, ecc.). Di solito queste riattivazioni seguono a stati di stress, strapazzi fisici, denutrizione, traumi neurologici, infezioni intercorrenti (virus influenzali, Sars-Cov).



Il viroma altera la suscettibilità alle malattie

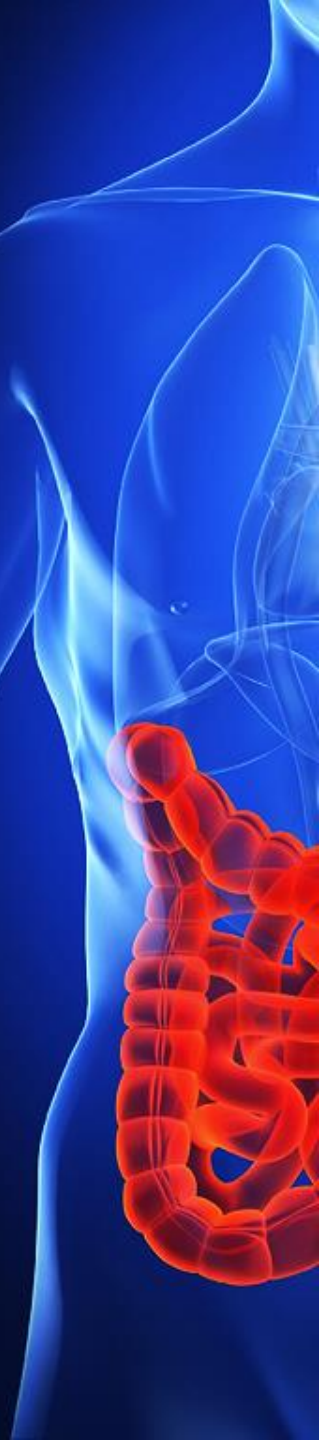
Nei soggetti geneticamente predisposti, i virus sono in grado di modificare il rischio nei riguardi delle malattie croniche. Per esempio, il virus della coriomeningite linfatica può inibire la comparsa del diabete in alcuni tipi di cavie, mentre in altre può peggiorare la glomerulonefrite. Nei pazienti affetti da artrite reumatide, sindrome di Sjogren, lupus eritematoso e sclerosi multipla è stata dimostrata una latenza del virus Epstein-Barr (EBV). Secondo i ricercatori, l'infezione cronica da EBV concorre ai disordini autoimmunitari attraverso un meccanismo di cross-reazione (reazione verso il virus e contemporaneamente verso i tessuti umani) chiamato *"mimetismo molecolare"*. Un altro virus in grado di alterare le risposte difensive è il **norovirus**, che è responsabile della **maggioranza delle infezioni gastrointestinali non batteriche nell'uomo**. Per esempio, nei topi con mutazione del gene Atg16L, gene che aumenta la suscettibilità alla malattia di Crohn, l'infezione con norovirus murino scatena proprio questa grave malattia infiammatoria intestinale. Si sospetta che la stessa cosa possa accadere in soggetti umani con predisposizione genetica e in concerto con altri fattori ambientali, tra cui i batteri appartenenti alla normale flora intestinale.



Il viroma modifica l'espressione genetica e il rischio autoimmunitario

.

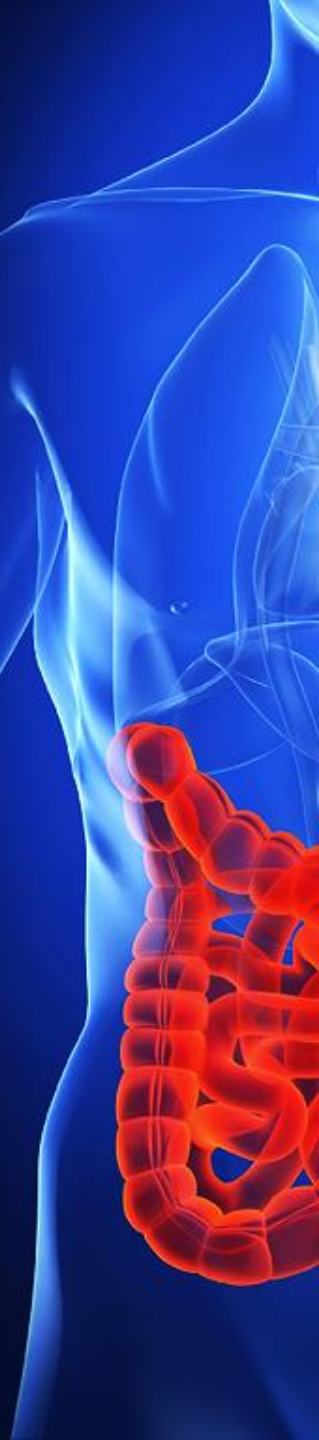
Il **norovirus** è in grado di modificare in modo sostanziale l'espressione genica nei topi Atg16L, rispetto ai topi normali. Per esempio, si verifica una completa inversione dei livelli di espressione dei geni che regolano il metabolismo dei carboidrati e degli amminoacidi, il traffico proteico intracellulare e il targeting e la localizzazione delle proteine. Ciò dimostra come la vulnerabilità genetica possa determinare il modo con cui un'infezione influenza la nostra identità trascrizionale. Queste alterazioni nell'espressione genetica possono influenzare grandemente l'immunofenotipo dell'ospite. L'immunofenotipo coincide con il livello base di attivazione del sistema immunitario in seguito allo stimolo di un antigene o di materiale immunogeno. Quindi, i cambiamenti nell' espressione genetica dovuta ad una infezione latente può influenzare il modo con cui il sistema immunitario risponderà a future aggressioni patogene. **I differenti modi con cui si esprimono i geni in seguito ad un' infezione virale può anche influenzare la suscettibilità ad una malattia cronica e la sua progressione**. Nei topi, un'infezione latente da gamma-herpes-virus-68 (geneticamente simile ad EBV umano) è in grado di produrre variazioni nella espressione dei geni della milza, cervello e fegato, influenzando quindi significativamente la trascrizione genetica nelle cellule degli organi dell'ospite. ***In particolare, si è visto che l'infezione latente è in grado di regolare l'espressione di quei geni implicati nel rischio di malattie autoimmuni, tra cui la celiachia, la malattia di Crohn e la sclerosi multipla.***



Nell’insieme i cambiamenti epigenetici nella regolazione dell’espressione dei geni possono determinare una modifica del ***fenotipo*** di una cellula, un tessuto, un organismo (ciò che vediamo come risultato dell’espressione dei geni), senza che sia per questo modificato il ***genotipo*** (la sequenza del DNA dei nostri geni). Con una metafora attinta dalla lingua scritta, possiamo considerare le modifiche epigenetiche sulla sequenza di DNA come gli accenti posti sulle parole: non cambiano la sequenza di lettere di cui è fatta la parola, ma il modo in cui questa viene pronunciata e dunque compresa

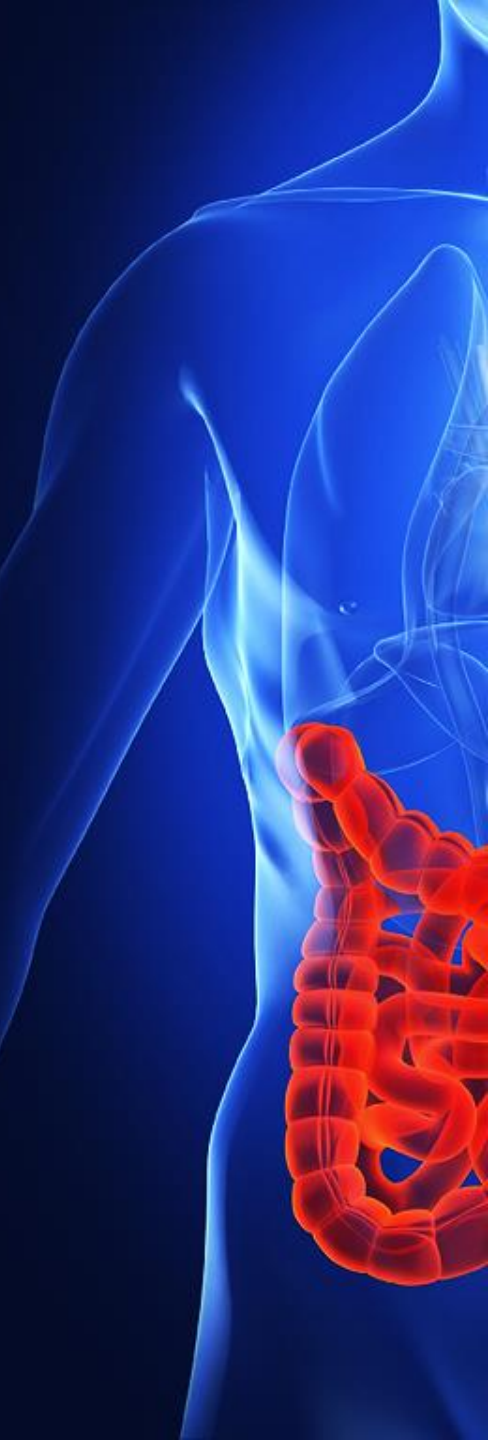
Le caratteristiche epigenetiche si modificano nel corso della vita e possono essere trasmesse sia da una cellula che si duplica alle cellule figlie, sia dai genitori alla prole.

L’epigenetica può influenzare il rischio di sviluppare molte malattie, incluso il cancro.



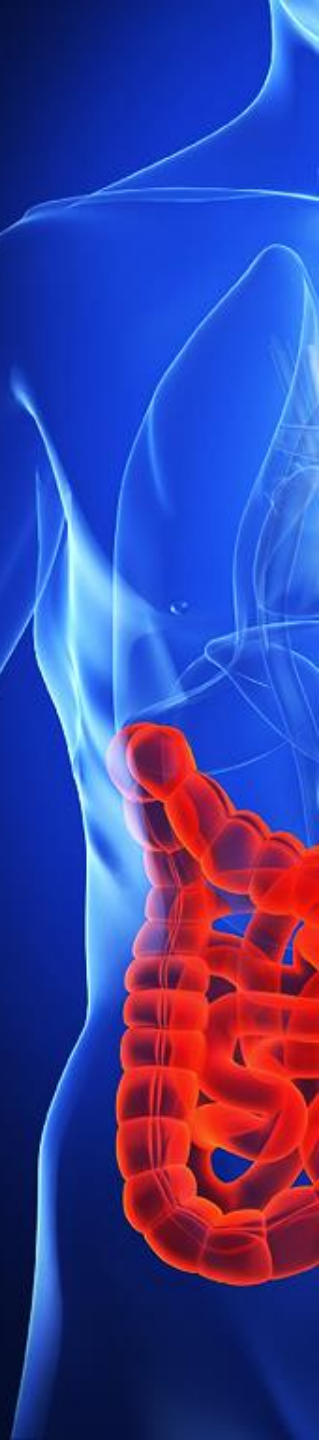
La cellula utilizza anche i cosiddetti RNA non codificanti per modificare in modo epigenetico l'espressione dei geni. *Si tratta di molecole di RNA che, a differenza di quelle codificanti, non sono usate per produrre proteine, ma si appaiano a RNA codificanti e li silenziano*, ovvero non permettono che diano origine al prodotto finale (è accaduto in coloro che hanno fatto la vaccinazione anti Sars Cov-2 attraverso un mRNA che, mediante una trascrittasi inversa va ad interagire sul DNA modificandone alcune sequenze critiche: La trascrittasi inversa (chiamata talvolta "DNA polimerasi RNA-dipendente") è un enzima che catalizza la trascrizione di RNA in DNA, *vale a dire l'inverso del normale processo di trascrizione. Si tratta quindi di una polimerasi inusuale*; è stata identificata nei retrovirus, dai quali viene utilizzata per copiare l'informazione contenuta nel genoma retrovirale (che è costituito da RNA) in una molecola di DNA a doppio filamento che può così integrarsi nel genoma della cellula ospite).

Alcuni frammenti di coronavirus potrebbero integrarsi nel nostro DNA, ed è per questo motivo che alcune persone potrebbero risultare positive per lunghi periodi, anche mesi dopo la guarigione. Un'ipotesi già messa in campo a dicembre scorso dai ricercatori del Massachusetts Institute of Technology (Mit) in uno studio pre-print su *BioRxiv*, *che ha generato non poche polemiche tra la comunità scientifica, e che oggi trova ulteriori e nuove conferme*. Lo stesso team di ricerca, infatti, ha appena pubblicato un nuovo lavoro sulle pagine della rivista *Pnas*, dove dimostra che **il genoma virale può effettivamente entrare a far parte del nostro DNA. *"Ora abbiamo prove inequivocabili che le sequenze di coronavirus possono integrarsi nel genoma"*, ha commentato l'autore Rudolf Jaenisch.**



Le infezioni virali possono compensare una immunodeficienza

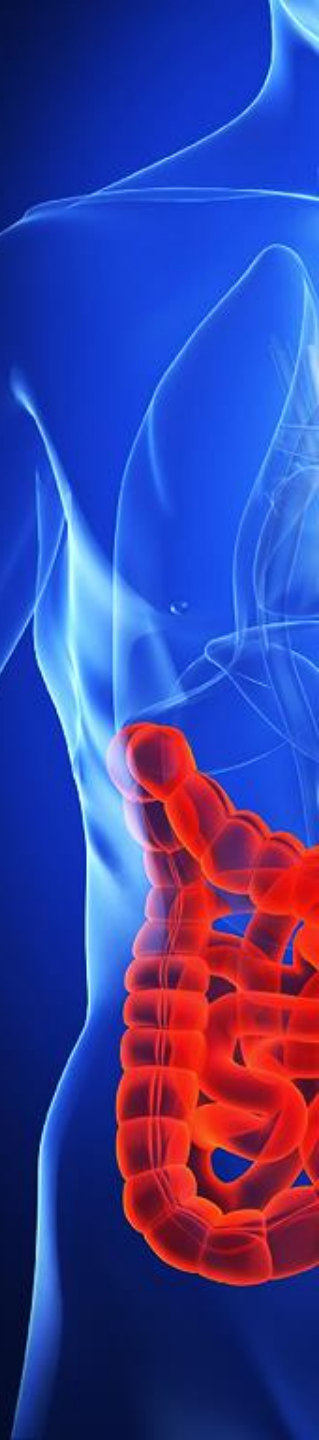
Torniamo al nostro herpesvirus che conferisce una protezione verso certi batteri in seguito ad una sovra-espressione dell'interferone. Questo è stato confermato in altri modelli murini in cui c'erano dei deficit immunitari verso i batteri. In sostanza, l'infezione cronica da herpesvirus stimola il sistema immunitario e compensa la carenza di citochine associata a diverse forme di immunodeficienza**. Il tipo di infezione latente e il suo variabile impatto sulla espressione genica potrebbe spiegare come mai persone con la stessa predisposizione genetica hanno poi manifestazioni cliniche diverse. Questo rappresenta un'altra dimostrazione di come il corredo genetico non equivale ad un destino inevitabile.**



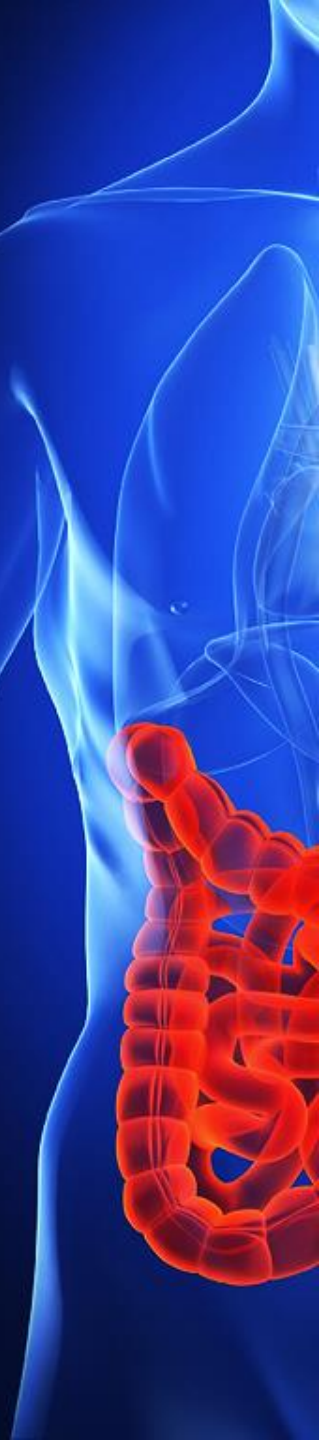
Viroma e vaccini

•

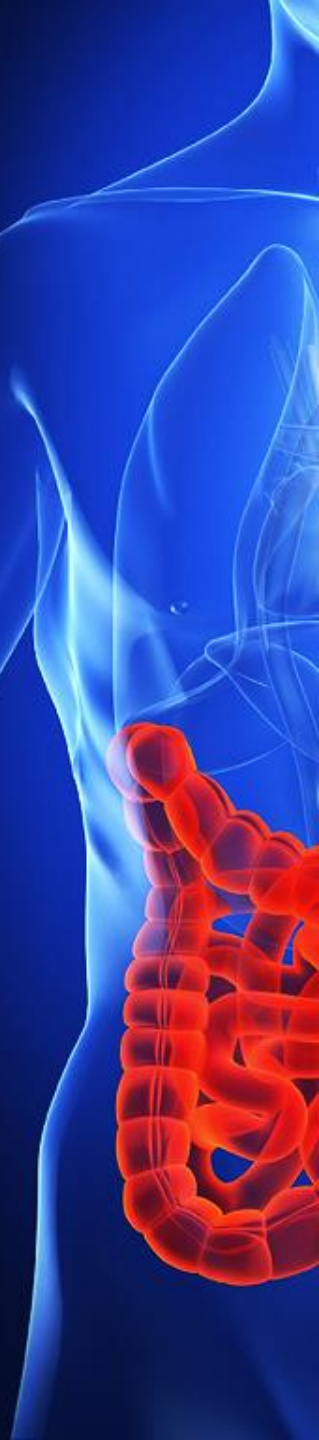
E’ stato dimostrato, sia nelle cavie sia nell’uomo, che **alcune infezioni virali infantili modificano l’espressione dei geni legati alla risposta vaccinale e che questo potrebbe spiegare perché alcuni individui sono più sensibili ai danni da vaccino rispetto ad altri**. Ripetute vaccinazioni potrebbero privare il corpo del favorevole effetto immuno-modulante di alcuni virus che causano le malattie virali infantili e con cui gli esseri umani si sono co-evoluti.



La malattia da coronavirus 2019, il cui agente eziologico è il coronavirus SARS-CoV-2, è caratterizzata da sintomi del tratto respiratorio inferiore, ampia tempesta citochinica sistemica e sintomi neurologici come ageusia e ipo/anosmia. La replicazione nella gola di questo virus è particolarmente evidente a partire dai primi 5 giorni dell'infezione e perdura anche dopo la scomparsa dei sintomi, dimostrando che questo distretto, ricco dei recettori ACE2 e TMPRSS2 (protein serina transmembrana 2), è di particolare importanza per la vulnerabilità del virus ed il suo successivo coinvolgimento a livello polmonare e intestinale. I ricercatori del Dipartimento di Malattie Infettive dell'Università di Udine, in collaborazione con quelli del Dipartimento di Pneumologia dell'Università di Trieste, nello studio ***Profiling of oral microbiota and cytokines in COVID-19 patients***, rilevano che i pazienti COVID-19, rispetto ai controlli sani, presentano una *riduzione della biodiversità del microbiota orale, con una marcata differenza relativa ad alcuni batteri caratteristici dei due gruppi. Specie come* ***Prevotella*** *e* ***Veillonella*** *sono sempre presenti nei pazienti COVID-19, mentre* ***Streptococcus*** *e* ***Rothia*** *erano dominanti nei pazienti sani.*



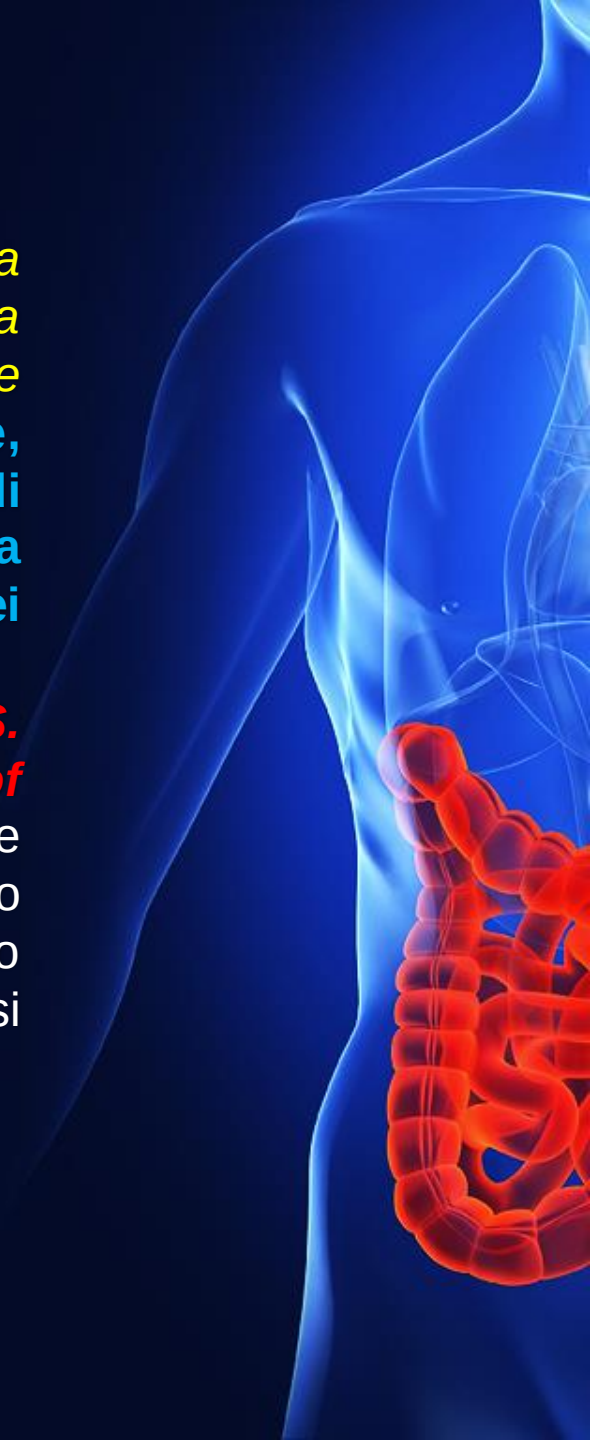
I batteri presenti nei malati sono correlati anche ad un aumento della produzione di citochine e chemochine pro-infiammatorie in grado di promuovere le esacerbazioni tipiche della patologia. I pazienti COVID-19 mostravano un'alta presenza di citochine pro-infiammatorie locali (IL-6, IL-5, IL-2, TNF-α e INFγ) sovrapponibile a quella riscontrata a livello sistemico nei pazienti gravi. Interessante notare che *solo nei pazienti dove vi era una forte predominanza in Streptococcus le citochine infiammatorie erano presenti in percentuali più basse rispetto agli altri soggetti analizzati, anche del gruppo controllo*. **I ricercatori concludono suggerendo lo sviluppo di probiotici contenenti i biomarcatori rilevati nei soggetti sani quali Streptococcus e Rothia, da utilizzare localmente per contrastare i sintomi e la tempesta citochinica nei pazienti con COVID-19. Questo lavoro spiana la strada a un approccio teranostico* nella lotta contro il COVID-19, cercando di chiarire l'intima relazione tra microbiota orale e SARS-CoV-2.**



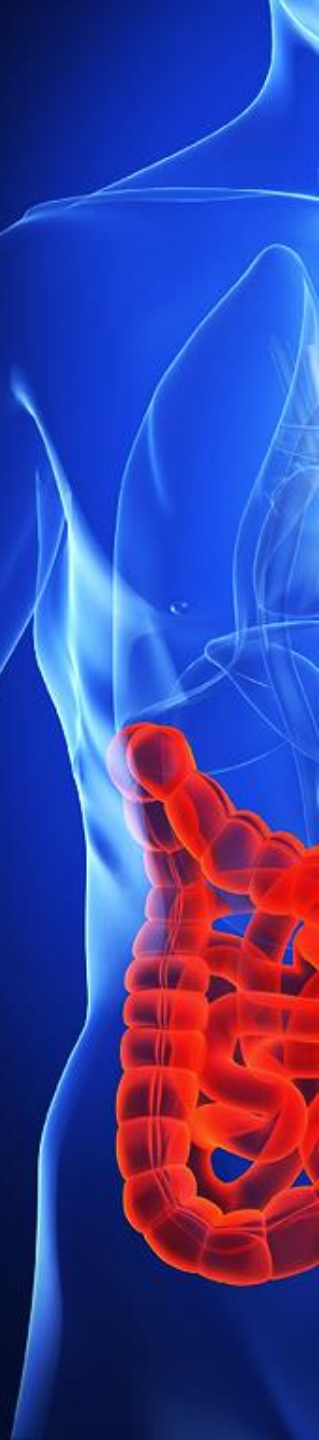
* La teranostica è un concetto innovativo in medicina basato sull'integrazione di diagnosi e terapia attraverso l'uso delle nanotecnologie.

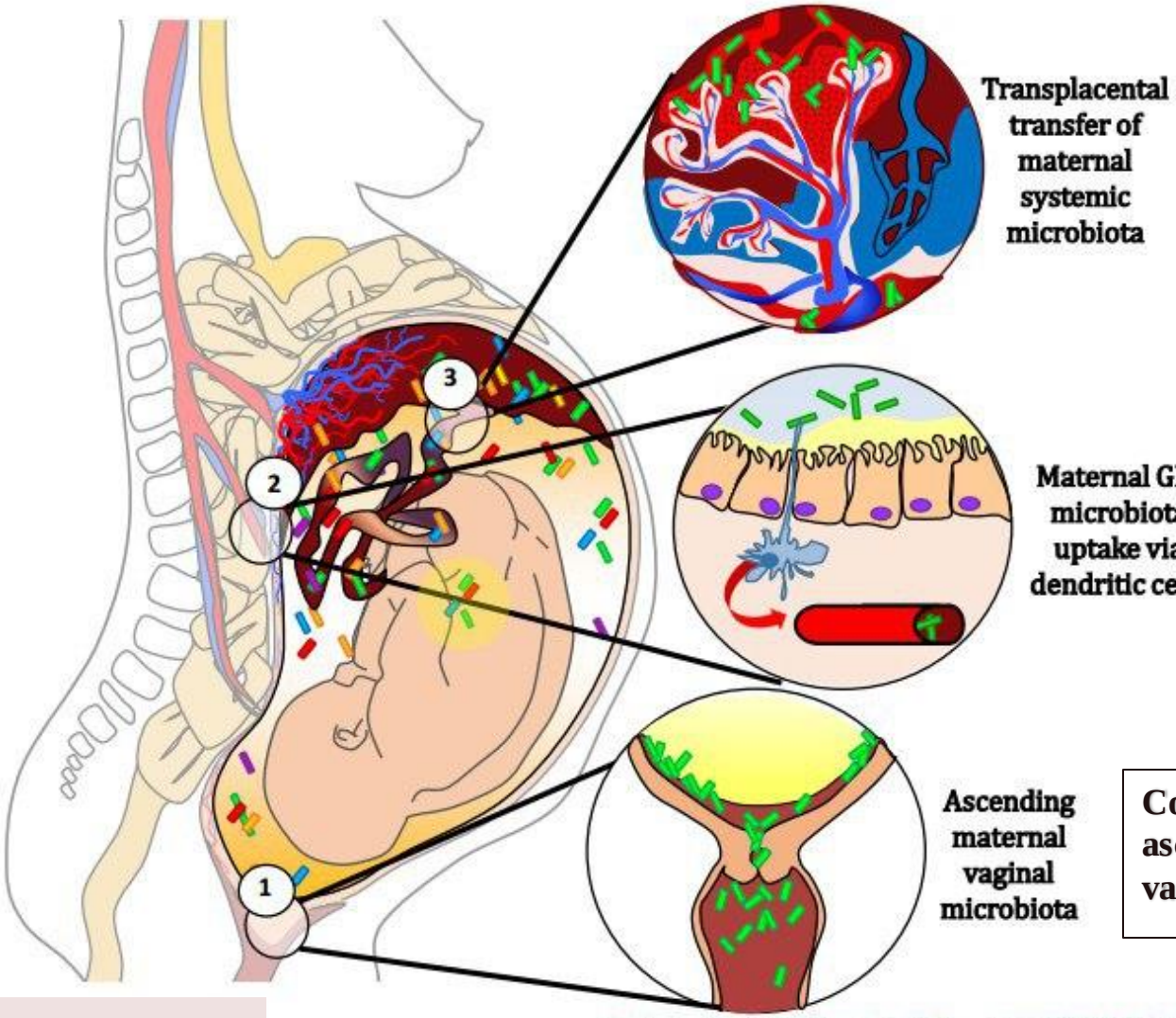
È stato altresì dimostrato che all'interno della stessa comunità alcuni batteri sono marcatori specifici della presenza di altre patologie concomitanti, cardiache e neurologiche, riscontrate in questi pazienti. **In particolare, si è osservato che la presenza in grandi quantità di Prevotella jejuni nel cavo orale era associata alla perdita dell'olfatto, sintomo riscontrato nel 35% dei pazienti esaminati.**

Recentemente nello studio ***The administration of S. salivarius K12 to children may reduce the rate of SARSCoV-2 infection*** i ricercatori, nel valutare la riduzione delle faringotonsilliti batteriche e virali in ambito pediatrico tramite l'uso profilattico dello S. salivarius K12, hanno analizzato anche i casi positivi da SARS-CoV2 emersi durante il lavoro.



Nello studio randomizzato e controllato volto a valutare il ruolo profilattico del probiotico orale S. salivarius K12 nella prevenzione della faringo-tonsillite batterica e virale, i ricercatori hanno arruolato 128 bambini che frequentavano la scuola nell'area di Milano, trattati per 90 giorni consecutivi nel periodo settembre – dicembre 2020. Durante lo studio, nei due gruppi di 64 bambini l'uno, si sono verificati casi di contatto stretto con positivi al COVID-19 o con sintomi riconducibili alla malattia per un totale di 33 bambini nel gruppo trattato e 46 contatti nel gruppo controllo e per questo sottoposti a tampone molecolare per la ricerca di SARS-CoV-2. I dati preliminari hanno confermato che ***i bambini trattati con lo S. salivarius K12 avevano avuto una forte riduzione di tutte le problematiche relative alle alte vie respiratorie: febbre, faringodinia, rinite e tosse rispetto ai soggetti di controllo dove la sintomatologia si è manifestata in oltre il 75% dei casi. Il dato più interessante, con un'alta significatività statistica (P=0.001), è risultato dai positivi al COVID-19: ben 24 soggetti sui 46 indagati del gruppo di controllo sono risultati con tampone positivo, mentre dei 33 soggetti del gruppo trattato nessun bambino si è ammalato di COVID-19***. I ricercatori concludono che questa relazione, molto preliminare, sembra sostenere l'ipotesi di *Iebba et al.* che ***la somministrazione di un probiotico orale contenente batteri appartenenti ai consorzi protettivi verso SARS-CoV-2 potrebbe prevenirne l'infezione.***





Colonizzazione per via discendente: sistema immunitario materno

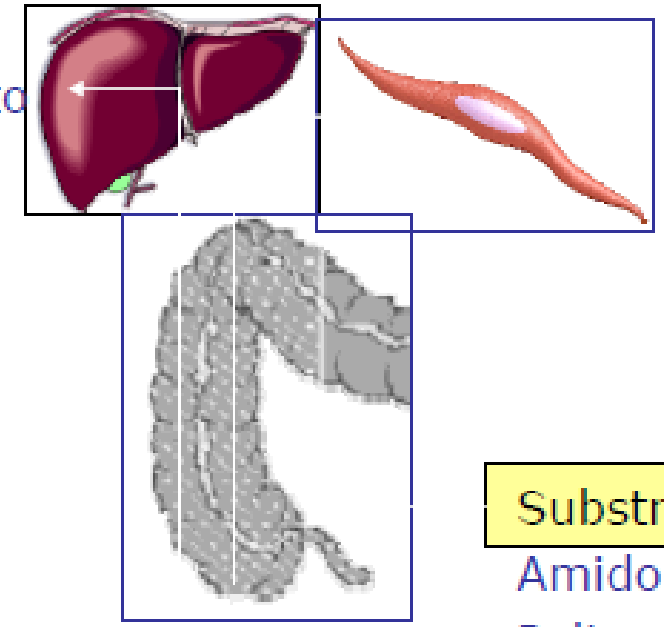
Colonizzazione ascendente; per via vaginale

Vie Metaboliche degli SCFA nell'uomo

Propionato

Captato dal fegato

- Gluconeogenico
- Inibisce sintesi colesterolo



Fermentazione

Acetato

Metabolizzato nei muscoli, reni, cuore, cervello

Substrati

Amido

Polisaccharidi non-amidacei

Oligosaccaridi non-digeribili

Alcuni zuccheri

Alcune proteine

Muco

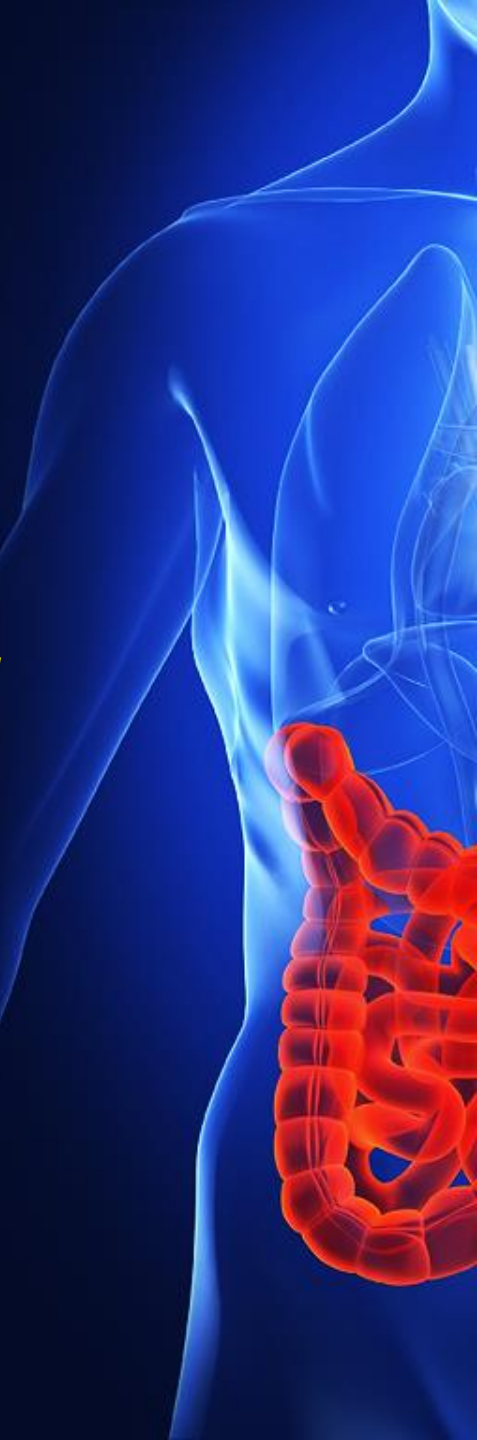
Buttirato

- Metabolizzato dallo epitelio colico
- Regola accrescimento e differenziazione cellulare

Butirrato prodotto da batteri intestinali stimola il sistema immunitario

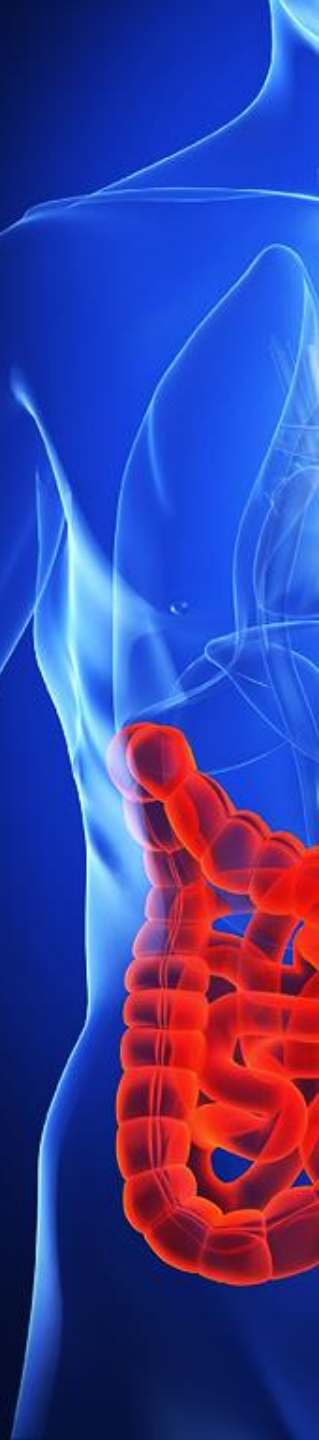
Un nuovo studio, condotto da ricercatori giapponesi del RIKEN Center for Integrative Medical Sciences in Giappone e pubblicato sulla rivista **Nature**, ha identificato un meccanismo mediante il quale i batteri intestinali influenzano i processi messi in atto dal sistema immunitario per ridurre l'infiammazione. ***Il butirrato, un prodotto di scarto della digestione delle fibre alimentari ad opera dei batteri intestinali, fungerebbe da "interruttore" epigenetico in grado di stimolare il sistema immunitario attraverso l' induzione della produzione di cellule T regolatorie nell'intestino***. Tale scoperta fornisce evidenza a supporto del possibile impiego di butirrato come terapia per le malattie infiammatorie intestinali (IBD), come il morbo di Crohn.

In letteratura esistevano già dati a supporto della mancata produzione di butirrato nei pazienti affetti da malattie infiammatorie intestinali e della presenza di bassi livelli di questo acido grasso a livello intestinale. Questi studi, tuttavia, concludevano che la ragione per la quale il butirrato era in grado di coadiuvare la riduzione del processo infiammatorio era dovuta al ruolo dell'acido grasso come fonte di energia per le cellule di rivestimento della parete intestinale del colon.



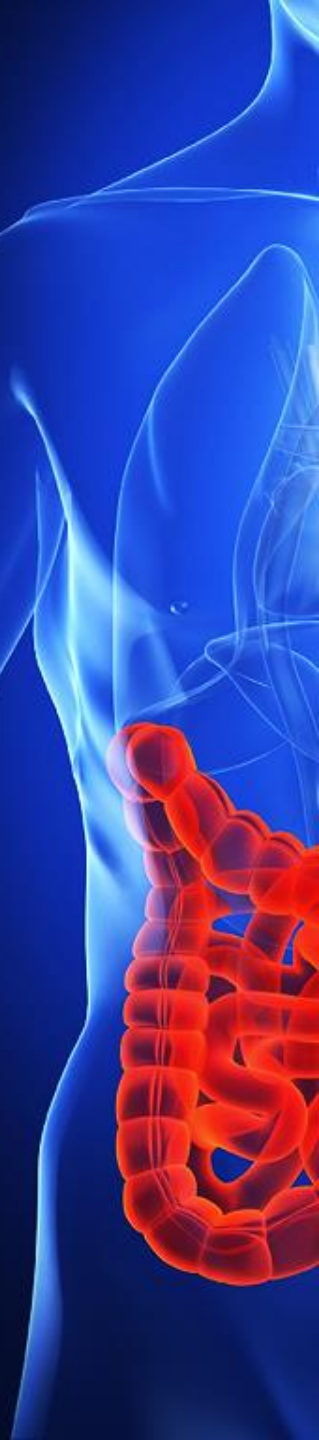
Il nuovo studio, invece, è il primo a fornire una base molecolare per il ruolo del butirrato come agente stimolante la produzione di linfociti T regolatori.

Nello specifico, il team di ricerca giapponese ha studiato i meccanismi molecolari attraverso i quali i microrganismi commensali dell'intestino aumentano il numero di cellule T regolatorie presenti nel colon di topi incrociati germ-free. *I risultati della loro ricerca hanno dimostrato che l'acido butirrico, un acido grasso a catena corta prodotto dai batteri commensali, agisce sulle cellule T naive per promuovere la loro differenziazione in cellule T regolatorie*. *Ciò sarebbe reso possibile grazie a variazioni epigenetiche che regolano l'espressione dei geni responsabili per la differenziazione delle cellule T naive in cellule T regolatorie*. *Lo studio ha mostrato che i topi sofferenti di colite, presentavano un innalzamento dei livelli di cellule T regolatorie e un miglioramento della sintomatologia dopo somministrazione di butirrato come parte della loro dieta*. "Le cellule T regolatorie sono importanti per il contenimento di risposte infiammatorie eccessive come pure nei disordini autoimmuni. Queste scoperte, pertanto, potrebbero essere applicate per la prevenzione e il trattamento delle IBD, delle allergie e delle malattie autoimmuni – ha dichiarato il dr. Ohno, autore principale dello studio. – *Il butirrato è naturale e sicuro come terapia ha aggiunto e, particolare non trascurabile in tempi di restrizione dei budget sanitari rappresenta un'opzione a buon mercato*".



Un'altra funzione dell'acido butirrico può essere riferita alla sua capacità di ***rallentare la progressione del processo aterogeno riducendo l'adesività e la migrazione dei macrofagi****, quindi, di fatto,* ***aumentando la stabilizzaizone della placca.***

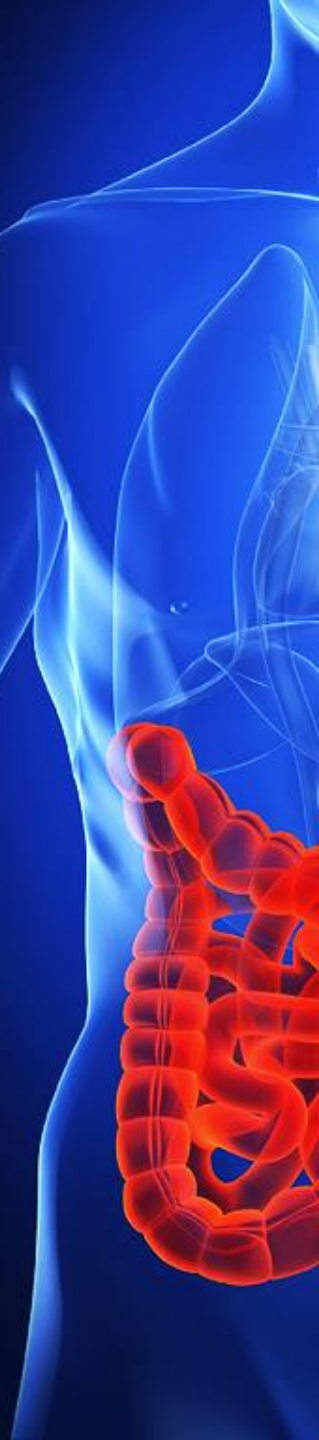
Il meccanismo d'azione sembra essere riconducibile alla riduzione dell'espressione del CD36 nei macrofagi e nelle cellule endoteliali, alla diminuzione delle citochine infiammatorie e alla riduzione dell'attivazione dell'NFkB (Aguilar et al.2014).



Metabolismo minerale

Il microbiota intestinale interviene nell'assorbimento e nel metabolismo del calcio grazie alla capacità di incrementare l'espressione dei recettori delle cellule epiteliali per la vitamina D in maniera dipendente da SCFA e di regolare il trasporto del calcio attraverso le cellule epiteliali e il suo immagazzinamento in compartimenti intracellulari, mediante un segnale MAPK (mitogen-activated protein kinases) e PKC (protein-chinasi C) dipendente.

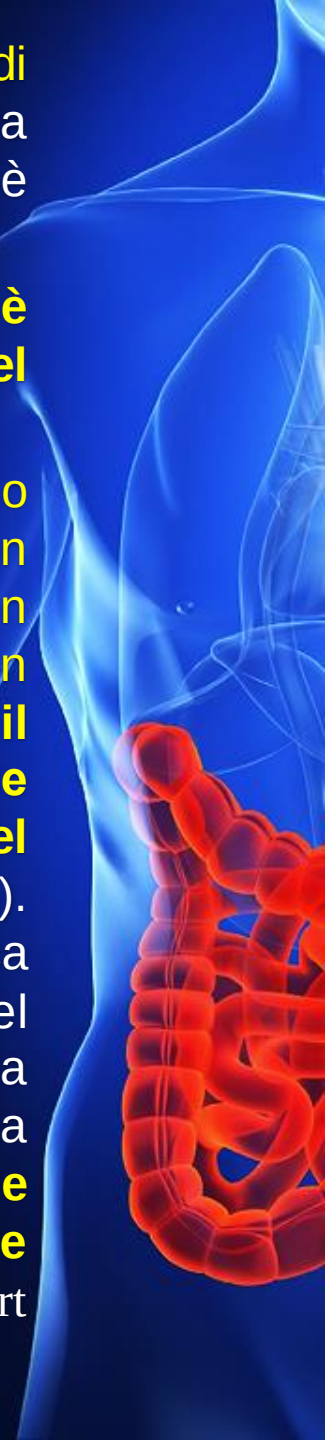
Il microbiota e i probiotici inducono l'espressione di TRPV6, principale trasportatore del calcio nelle cellule epiteliali (Vit D dipendente). Meccanismi simili facilitano l'assorbimento del magnesio.



Il Microbiota è il maggiore produttore di acidi organici circolanti e di metaboliti del triptofano (Wikoff et al.2009). Alcuni prodotti della fermentazione batterica, in particolare l'acido lattico e propionico, è riconosciuto un ruolo nel comportamento.

In ratti alimentati con **diete ricche di carboidrati fermentescibili, si è evidenziata una forte correlazione fra i livelli di acido lattico nel cieco e modificazioni della memoria.**

Anche nell'uomo, elevati livelli di acido propionico nelle feci, si correlano con lo stato d'ansia nei soggetti affetti da IBS (Sindrome del Colon Irritabile) (Tana et al. 2010). Il malassorbimento di carboidrati con conseguente rialzo dell'intensità di fermentazione è stato associato con la depressione femminile (Ledochowski et al. 2000). **Diverso è il discorso per l'acido butirrico che agisce riducendo l'espressione genica delle citochine attraverso l'inibizione dell'attivazione del NFkB** (Nuclear Factor k) e la degradazione del IkB (Inibitor Protein k). L'acido butirrico, che è prodotto attraverso la fermentazione batterica (probiotica) della fibra alimentare, svolge un importante ruolo nel mantenimento dell'integrità della mucosa del colon e ne regola la proliferazione e la differenziazione. Questo fenomeno confermerebbe la azione di immuno-modulatore, ad esempio, **sottoesprimendo le risposte delle cellule T, inducendo l'anergia cellulare delle cellule Th1 e modulando la presentazione dell'antigene** (Böhmig et al.,Gilbert and Weigle, 1993; Siavoshian et al. 1996).

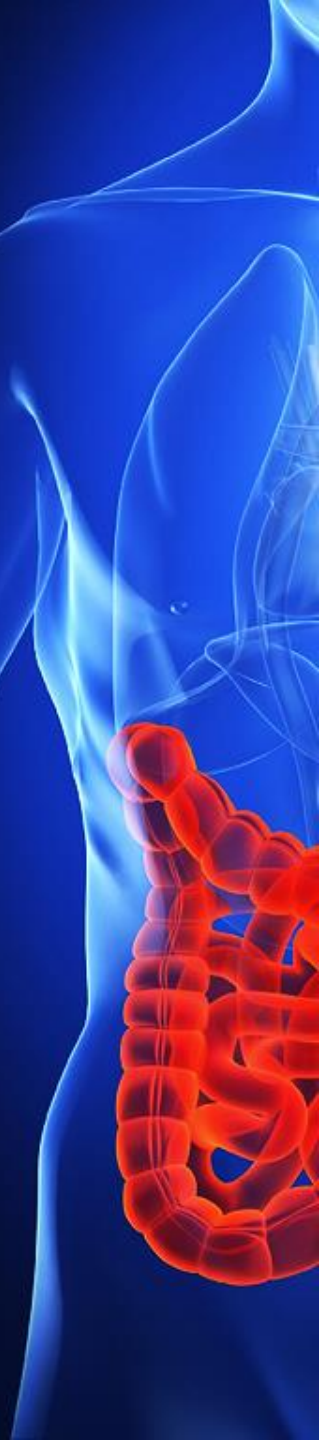


Il trasportatore dell'acido butirrico è sottoespresso nella mucosa di soggetti affetti da IBD (Thilbault et al. 2007). **Inoltre i batteri dai quali dipende la produzione di acido butirrico sono ridotti di numero nel microbiota intestinale e nei campioni di feci di pazienti con IBD quando confrontati con quelli di soggetti sani** (Franket et al. 2007). ***Queste osservazioni dimostrano che l'insufficiente produzione di acido butirrico è coinvolta nella patogenesi delle IBD***.

L'acido chinurenico, prodotto dal metabolismo del triptofano, antagonizza i recettori degli aminoacidi eccitatori ed è coinvolto in diverse patologie psichiatriche compresa la schizofrenia (Mynt, 2012).

Batteri umani come i *Lattobacilli* e *Bifidobatteri* possono produrre GABA, neurotrasmettitore coinvolto nella regolazione dell'ansia.

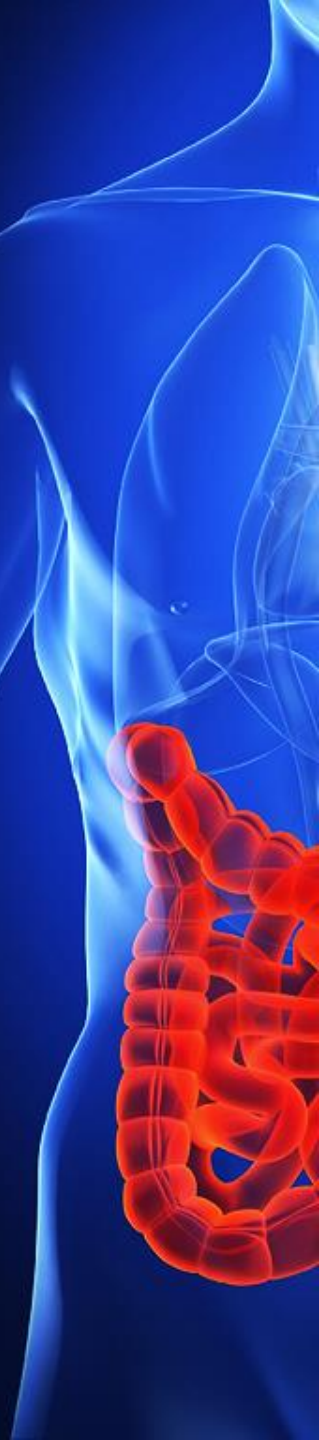
Soggetti con Depressione Maggiore (DM), siano essi in trattamento, oppure no, posti a confronto con soggetti sani, presentano un quadro infiammatorio silente classico che comprende il rialzo delle citochine infiammatorie nel sangue periferico e nel liquido cerebrospinale, oltre ad un rialzo periferico delle proteine della fase acuta (PCR, proteina legante il mannosio, fattori del complemento, ferritina e ceruloplasmina, amiloide sierica A, etc.: sono parte integrante dell'immunità innata) delle chemochine, delle molecole di adesione e delle prostaglandine (Raison et al. 2006, Zorilla et al. 2001).



Il rialzo di IL-6 (interleuchina-6) è stato associato alla privazione del sonno in pazienti depressi così come lo stesso NFkB, considerato il fulcro promotore del processo infiammatorio in senso stretto (Meyers et al. 2005, Motivala et al. 2005, Bower et al. 20002, Irwin et al. 2008).

Oltre al reperto dell'alterazione delle citochine (IL-1, IL-6 e TNFα), è stato trovato un incremento dei markers delle cellule T (recettore solubile IL-2) con il coinvolgimento sia dell'immunità acquisita (cellule T e B) sia innata (macrofagi) (Mossner et al. 2007). La somministrazione, in soggetti volontari, di citochine, come il Lipopolisaccaride (LPS) o attraverso vaccinazione (Salmonella Typhi) ha espresso una sovrapposizione di sintomi comportamentali simili a quelli della Depressione Maggiore, **presentando, rispettivamente, aumento dei sintomi depressivi e dell'ansia** (Reichenberg et al. 20001), nonché sindrome da fatica, confusione mentale e rallentamento psicomotorio (Brydon et al.2008).

Nei pazienti con cancro la somministrazione di IFN-α favorisce lo sviluppo di segni clinici della depressione (Musselman et al. 29001; Capuron et al. 2002). **Nel momento in cui i segnali delle citochine raggiungono il cervello, si influenza la sintesi, il rilascio e la captazione dei principali neurotrasmettitori** comprese le monoamine (Miller, 2008) che possono modificare (sperimentazione animale) il metabolismo della serotonina, della norepinefrina e della dopamina (Anisman et al. 2008; Felger et al.2007).

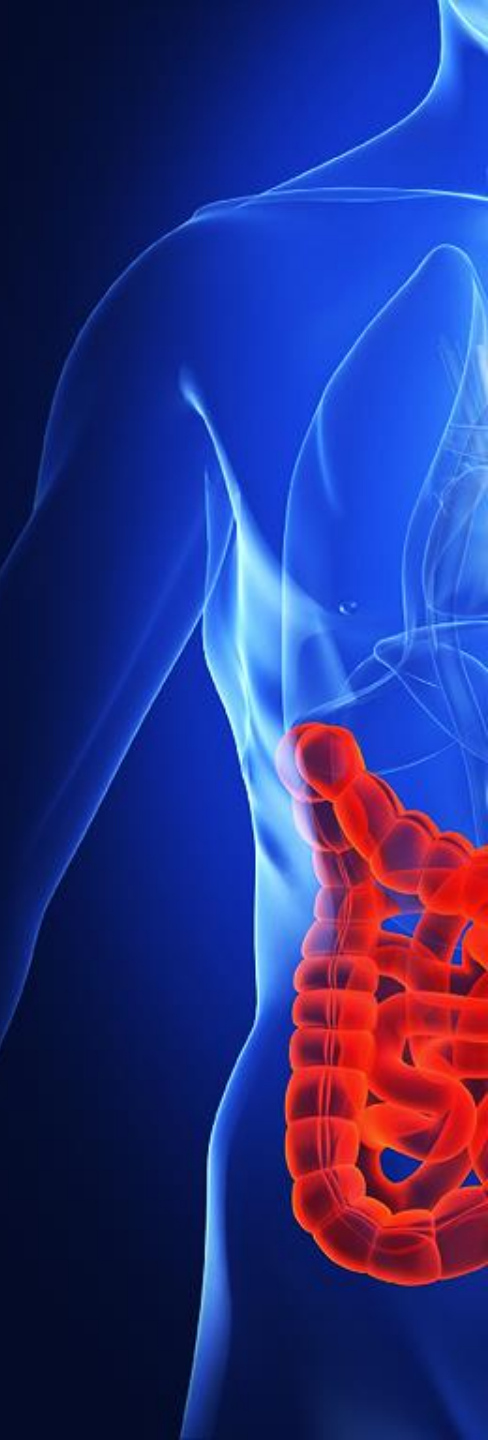


L'acido butirrico potrebbe dimostrarsi un asso nella manica per chi vuol perdere peso. La ricerca dimostra che gli acidi grassi a catena corta, come il butirrato hanno effetti metabolici positivi contribuendo a migliorare la sensibilità all'insulina e l'equilibrio energetico.

Altri studi hanno evidenziato che, l'acido butirrico, aiuta a tenere sotto controllo il peso corporeo stimolando la sintesi di ormoni intestinali (gastrina, secretina, pancreozimina, polipeptide pancreatico (PP), polipeptide intestinale vasoattivo (VIP), motilina, entero-glucagone, somatostatina), **aumentando la sintesi di leptina** (importante nella regolazione dell'appetito).

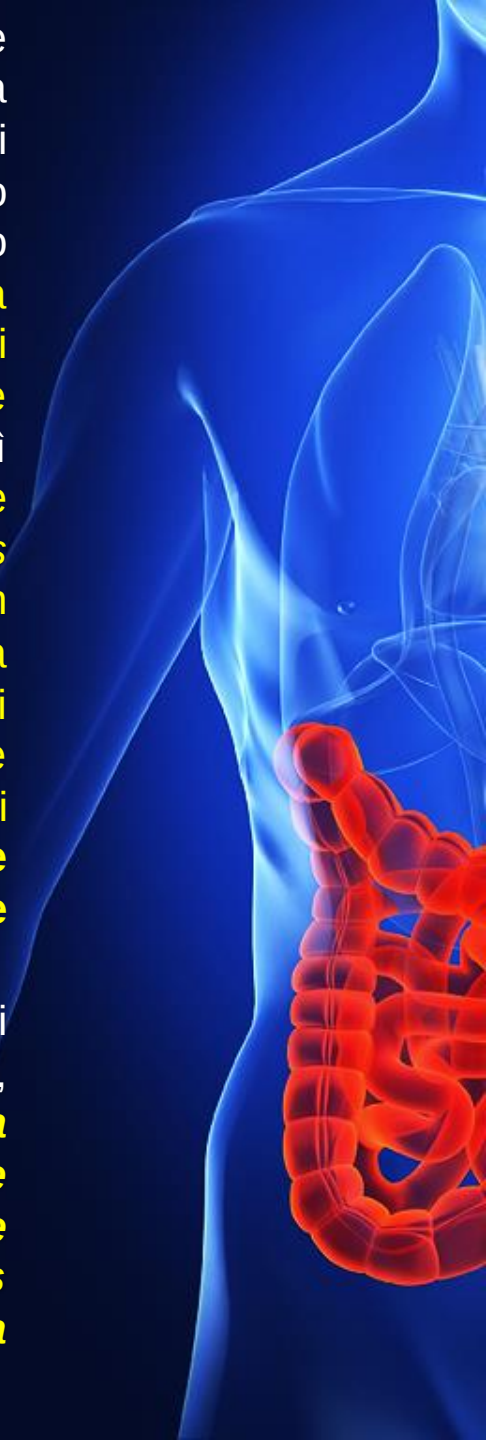
Inoltre il butirrato rappresenterebbe una terapia promettente per:

- La Sindrome dell'intestino irritabile
- Aiutare a ridurre i sintomi della Sindrome della permeabilità intestinale, uno dei disturbi digestivi correlato alle patologie autoimmuni in genere.
- l'insulino-resistenza, migliorando i livelli di glucosio, la sensibilità all'insulina (con conseguente perdita del peso) e persino la funzione mitocondriale.

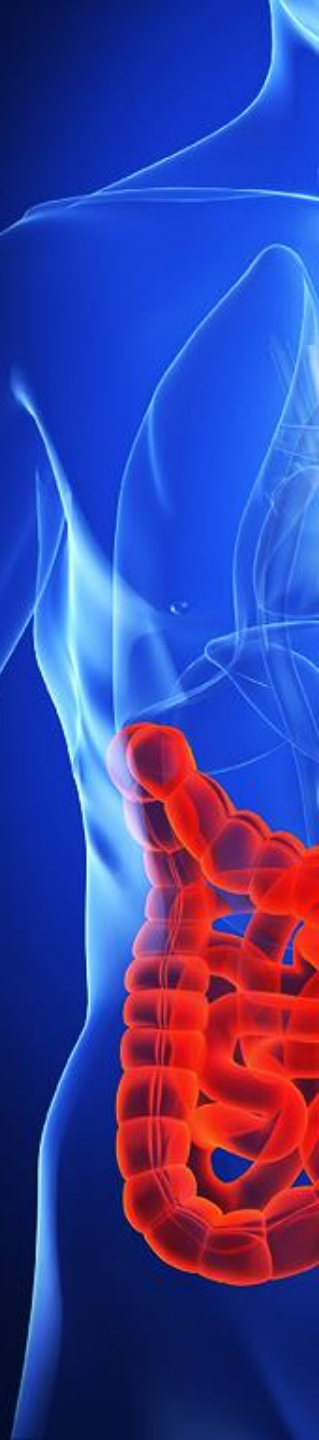


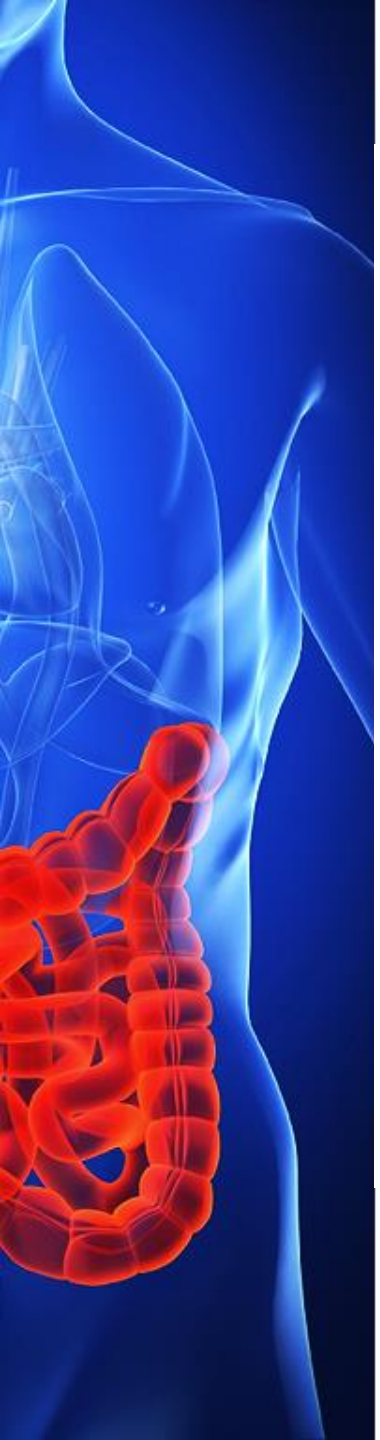
In condizioni di alterazioni dell'interazione tra batteri intestinali e organismo ospite, chiamate **disbiosi**, causate ad esempio dalla modificazione selettiva di determinati microrganismi, con sopravvento di alcuni batteri patogeni, potrebbero instaurarsi condizioni favorenti lo sviluppo di diverse malattie, tra cui la sclerosi multipla. È stato dimostrato che alcuni batteri dall'aspetto filamentoso, appartenenti alla specie dei "batteri filamentosi segmentati", sarebbero in grado di stimolare la proliferazione di cellule linfocitarie ad azione favorente l'infiammazione come le Th17, a livello sia ematico sia cerebrale, e così favorire lo sviluppo della sclerosi multipla; diversamente, altre specie batteriche appartenenti alla famiglia dei *Bacteroides fragilis* favorirebbero la proliferazione di cellule ad azione regolatoria, in grado di bloccare i processi infiammatori e impedire lo sviluppo della malattia, chiamate **Treg**. Queste osservazioni sono tanto più importanti se consideriamo che i linfociti Th17 sono in grado di attraversare la barriera emato-encefalica e provocare, nei modelli animali di sclerosi multipla, il danno della mielina; inoltre **le citochine da essi prodotte sono presenti in grande quantità nelle placche di demielinizzazione dei pazienti affetti da sclerosi multipla.**

Uno studio più recente ha analizzato la flora batterica intestinale di pazienti con sclerosi multipla in fase di ricaduta clinica di malattia, dimostrando una ***riduzione intestinale di batteri appartenenti alla specie Prevotella (in grado di determinare una riduzione della formazione di cellule infiammatorie Th17) e la presenza di due diversi ceppi di Streptococco (Streptococcus oralis e Streptococcus mitis), che solitamente risiedono nella cavità orale e possono favorire lo sviluppo di infiammazione***.



Lo studio sulle possibili relazioni tra microbiota e sclerosi multipla, campo nuovo ma in rapida espansione, non è importante solo per la comprensione dei meccanismi responsabili dell'insorgenza e dello sviluppo della malattia, ma potrebbe anche aprire la strada a nuovi trattamenti, attraverso la modificazione della composizione della flora batterica intestinale con l'utilizzo di probiotici, ovvero di integratori alimentari a base di microrganismi vivi ad azione antinfiammatoria e protettiva. I probiotici, somministrati per via orale in quantità adeguate, impedirebbero il propagarsi della cascata di eventi infiammatori responsabili dei processi di demielinizzazione e degenerazione cellulare alla base della malattia. Alcuni di questi prodotti contengono diverse specie di *Lactobacilli*, che in uno studio si sono dimostrati in grado di prevenire malattie autoimmuni come il diabete di tipo 1 e, quindi, potenzialmente utili per il trattamento della ***sclerosi multipla***. Altri probiotici con effetto terapeutico sono quelli contenenti ceppi del genere *Clostridia*, **capaci di favorire la proliferazione di linfociti ad attività regolatoria**. Stanno diventando sempre più numerosi i dati sulla capacità di alcune sostanze nutritive di modificare la flora batterica intestinale con effetti benefici sull'organismo, come ad esempio gli acidi grassi polinsaturi omega-3, contenuti nei pesci, nell'olio d'oliva e nella frutta secca, che favoriscono a livello intestinale la proliferazione di microrganismi batterici capaci di produrre sostanze ad azione antinfiammatoria.





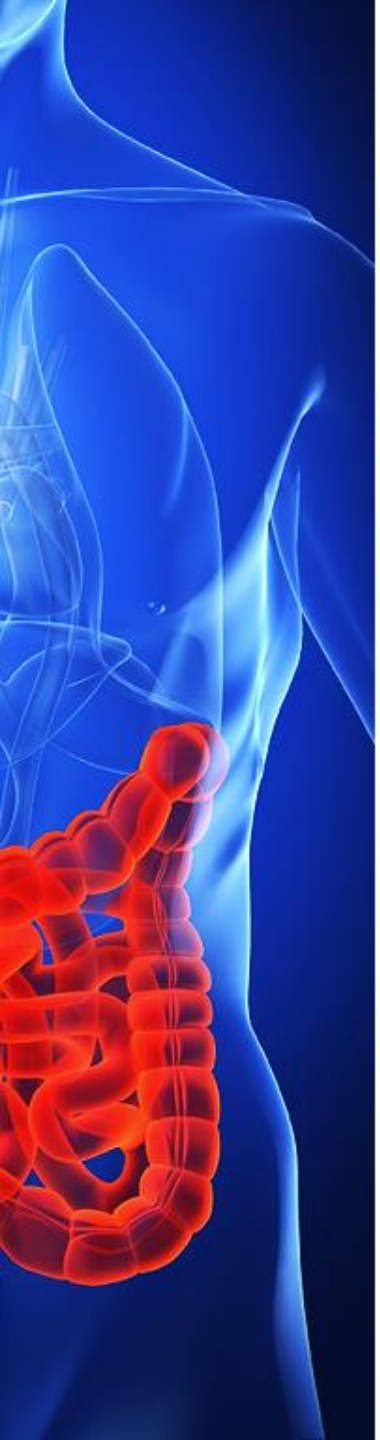
Microbiota Intestinale

Il microbiota intestinale è un vero e proprio organo, nel quale esistono dei microorganismi simbiontici. Il loro ruolo principale è quello di proteggerci mediante la produzione di metaboliti e di vitamine, regolazione dell'assorbimento dei minerali e regolazione del sistema immunitario.

Il MICROBIOTA INTESTINALE

- Vero e proprio organo, formato da un insieme di microrganismi simbiotici (batteri, virus, funghi, protozoi, archea)
- Il loro ruolo principale è quello di proteggere l'ospite (nel nostro caso l'uomo) mediante:
  - Produzione di metaboliti e vitamine
  - Regolazione dell'assorbimento di minerali
  - Regolazione del sistema immunitario

Quando questo equilibrio viene meno si possono sviluppare una serie di patologie, come ad esempio le M.I.C.I., l'obesità, il diabete mellito di tipo 2, il carcinoma colon-retto e alcune forme di allergie e malattie autoimmuni.



Il MICROBIOTA INTESTINALE

L'ALTERAZIONE

L'alterazione del microbiota intestinale può essere implicata in molte patologie quali:

- Malattie infiammatorie croniche intestinali
- Obesità
- Diabete mellito di tipo 2
- K colon retto
- Alcune forme di allergie e malattie autoimmuni

pertanto....

Considerando che il microbiota intestinale può essere implicato in queste patologie è importantissimo riequilibrarlo.

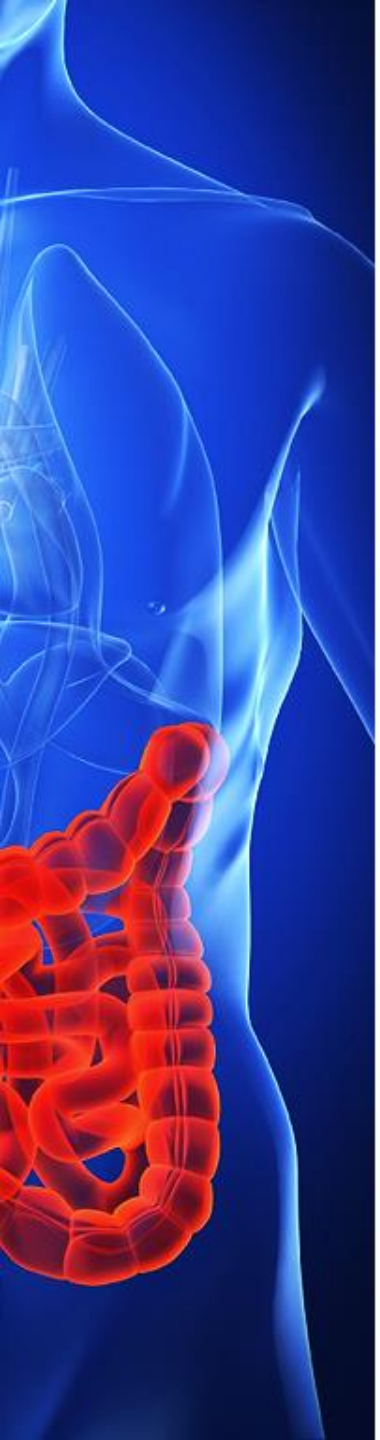
Test Mymicrobiota per l'analisi del microbiota intestinale

il TEST MyMicrobiota

L'ANALISI DEL MICROBIOTA INTESTINALE

- COSA E'
- ANALISI E INTERPRETAZIONE
- QUALI ARMI TERAPEUTICHE ABBIAMO A DISPOSIZIONE PER RIEQUILIBRARLO
- QUADRI DISBIOTICI MAGGIORMENTE PRESENTI A LIVELLO CLINICO e COME IMPOSTARE UNA TERAPIA IN POCHI MINUTI

Vedremo che cos'è, come si analizza e come si interpreta. Vedremo le armi terapeutiche che si hanno a disposizione per riequilibrarlo e i quadri disbiotici maggiormente presenti a livello clinico e sopratutto come riuscire ad impostare una terapia in pochi minuti quando si analizza il test.



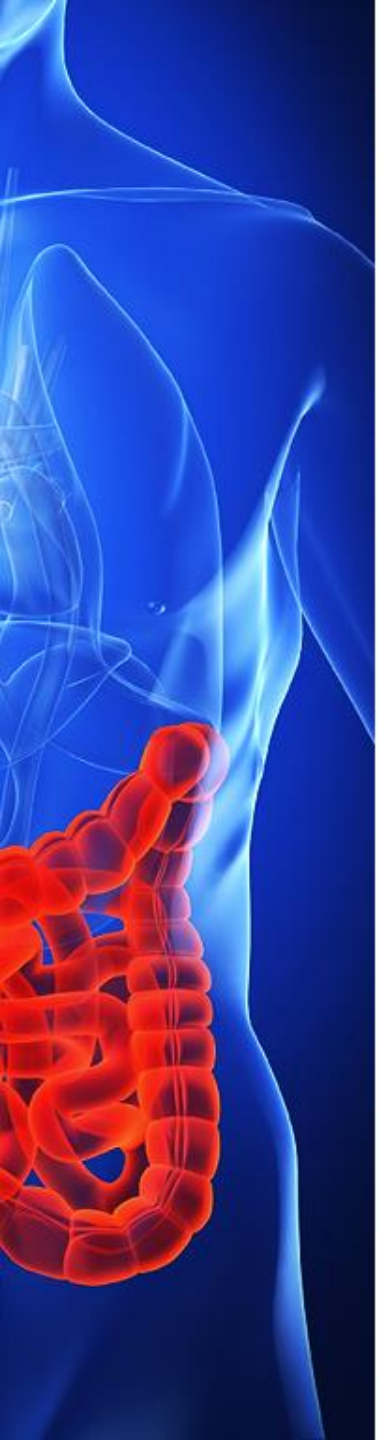
Cosa è

il TEST MyMicrobiota COSA E'

- Test usato per valutare la precisa catalogazione delle comunità batteriche di nicchia colonica
- All'interno del nostro organismo vi sono 3 Kg di batteri, di cui oltre il 90% è contenuto nell'intestino
- All'interno di quest'organo ci deve essere un equilibrio percentuale fra le diverse specie batteriche→ se questo equilibrio viene meno in maniera importante il pz potrà sviluppare patologie

Questo test valuta la precisa catalogazione delle comunità batteriche di nicchia colonica. In pratica nel nostro organismo abbiamo 3 Kg di batteri, di cui oltre il 90% è contenuto nell'intestino.

Questi batteri devono in percentuale essere in equilibrio tra di loro, altrimenti si possono verificare una serie di patologie.



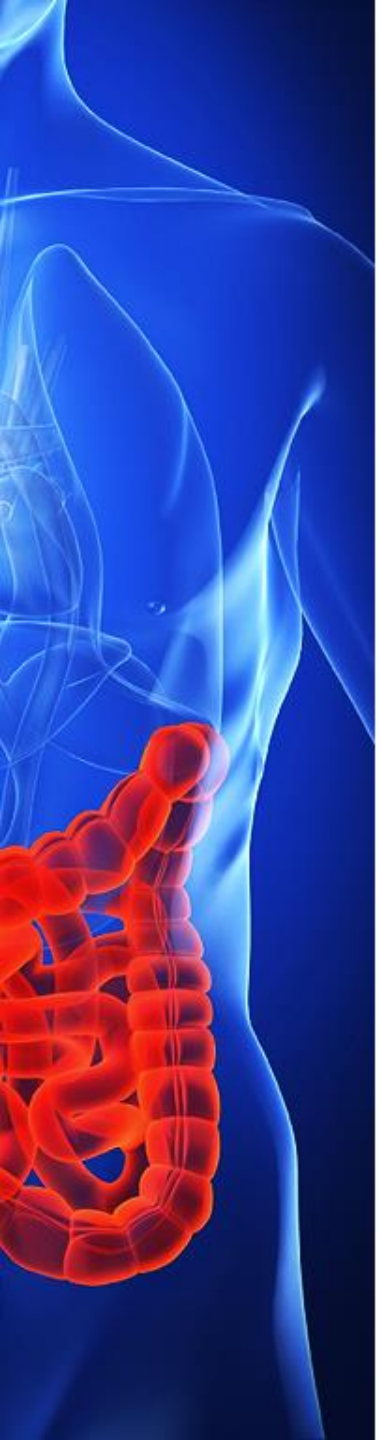
A chi è rivolto

Questo test fondamentalmente è rivolto a tutti, in particolare in età pediatrica è molto indicata nei bambini da 0 a 12 mesi, soprattutto in quei bambini che presentano una serie di fattori di rischio per sviluppare la disbiosi, cioè in neonati prematuri, quelli che sono nati con il cesareo, oppure allattati artificialmente.

È rivolto alle donne in gravidanza e agli adulti che presentano una serie di sintomatologie con una certa durata. Il microbiota di un adulto è già sviluppato da tre anni in su.

L'analisi e interpretazione del microbiota intestinale

Che cosa si deve vedere quando effettuiamo un test.

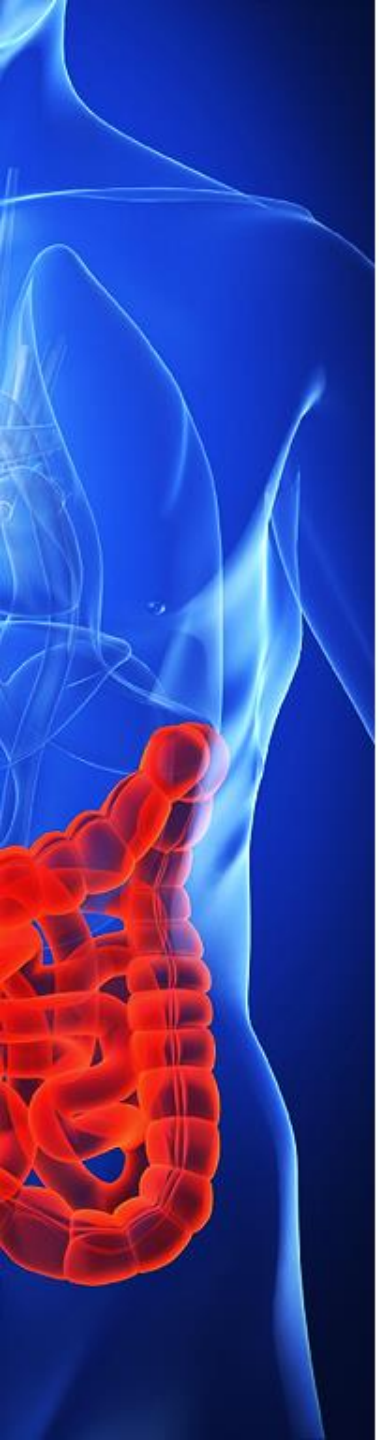


In ordine temporale abbiamo la curva di rarefazione, la tassonomia dei Phila, gli enterotipi dominanti, il rapporto Firmicutes/Bacterioidetes, l'abbondanza relativa Gram+/Gram- e tutta una serie di batteri che devono essere analizzati.

Curva di rarefazione

La curva di rarefazione è una curva che indica il livello di biodiversità calcolato mediante un indice chiamato OTU, il quale dice quant'è la variabilità genetica e batterica che si ha all'interno dell'intestino. Tanto più questa curva è alta, tanto maggiore è il numero di gruppi batterici contenuto nel campione e quindi anche la variabilità genetica e viceversa.

Analizzando semplicemente la forma di rarefazione, soprattutto quando è molto alterati, ci si può fare una idea ben precisa di quello che ha il paziente. I valori possono essere più alti o più bassi.



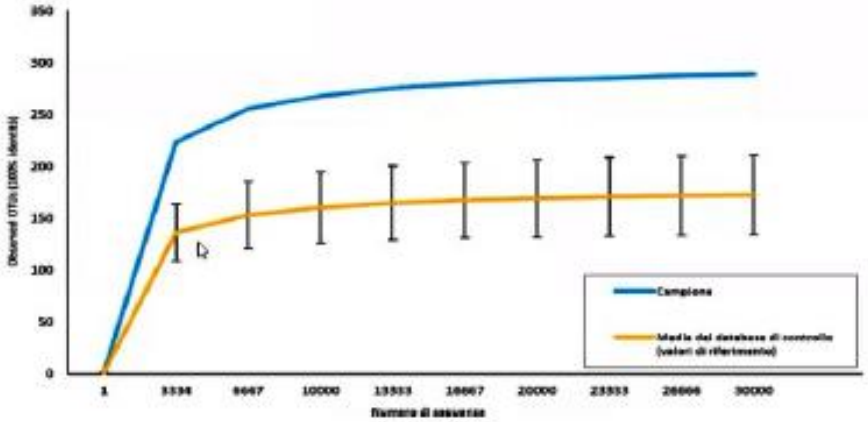
CURVA DI RAREFAZIONE

valori più alti della curva tipo

-STIPSI
-SIBO
-ABUSO IPP

Valutazione del livello di biodiversità (ricchezza in gruppi batterici) (**)

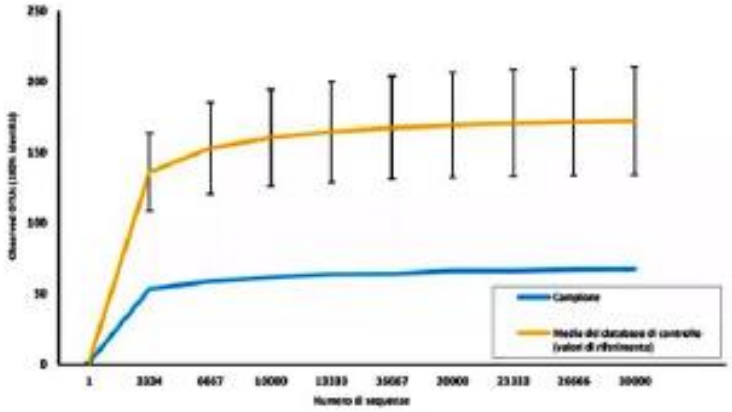
Indice di biodiversità "observed OTUs"

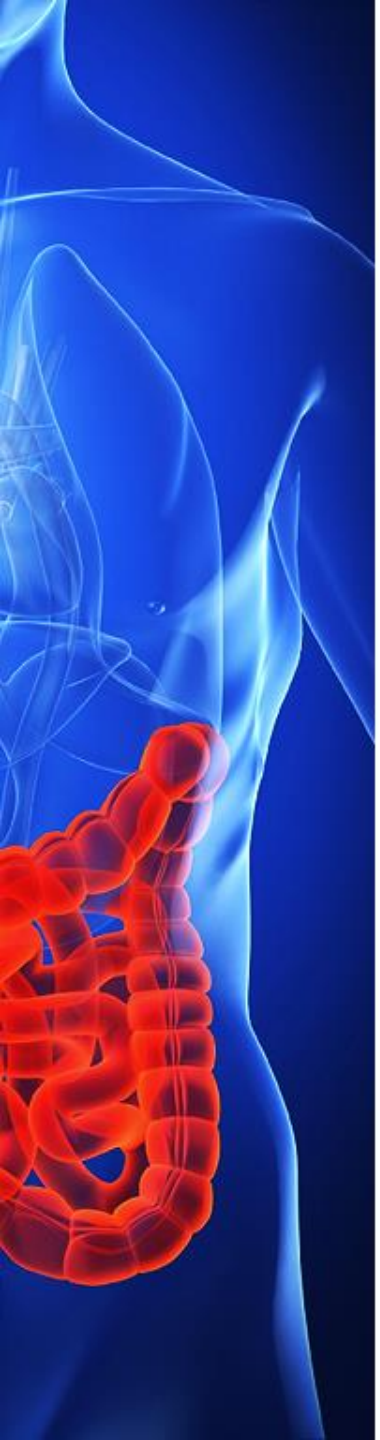


CURVA DI RAREFAZIONE

valori più bassi della curva tipo

-DIARREA
-ABUSO DI ANTIBIOTICI
-IBD



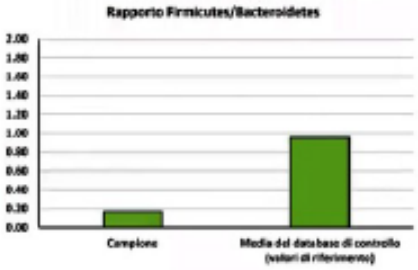


il TEST MyMicrobiota

ANALISI e INTERPRETAZIONE

Rapporto Firmicutes/Bacteroidetes

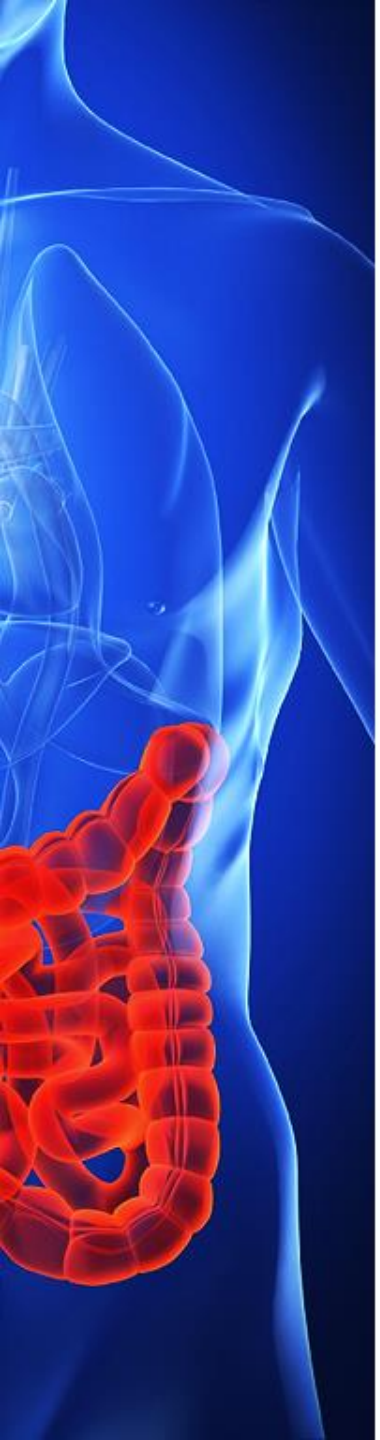
Rapporto dell'abbondanza relativa dei phyla Firmicutes/Bacteroidetes del campione analizzato rispetto al database di controllo (**)



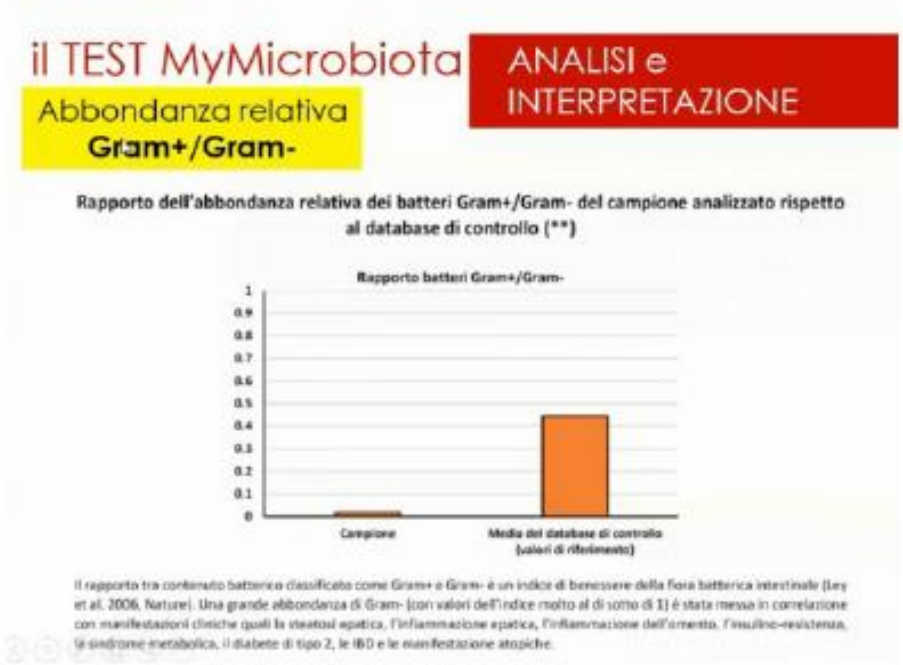
Il rapporto tra contenuto batterico classificato come Phylum Firmicutes e Phylum Bacteroidetes è un indice di benessere del microbiota intestinale (Ley et al. 2006, Nature). Valori molto più alti sperimentalmente correlano con l'obesità. Dal rapporto è

Importante è il rapporto il Firmicutes / Bacterioidetes. In questo rapporto si può capire se prevale una disbiosi di natura fermentativa quando aumentano i Firmicutes, oppure se prevale una disbiosi putrefattiva quando aumentano i Bacterioidetes.

Se aumentano i Firmicutes questo rapporto sarà aumentato, mentre se aumentano i Bacteriodetes questo rapporto sarà diminuito.

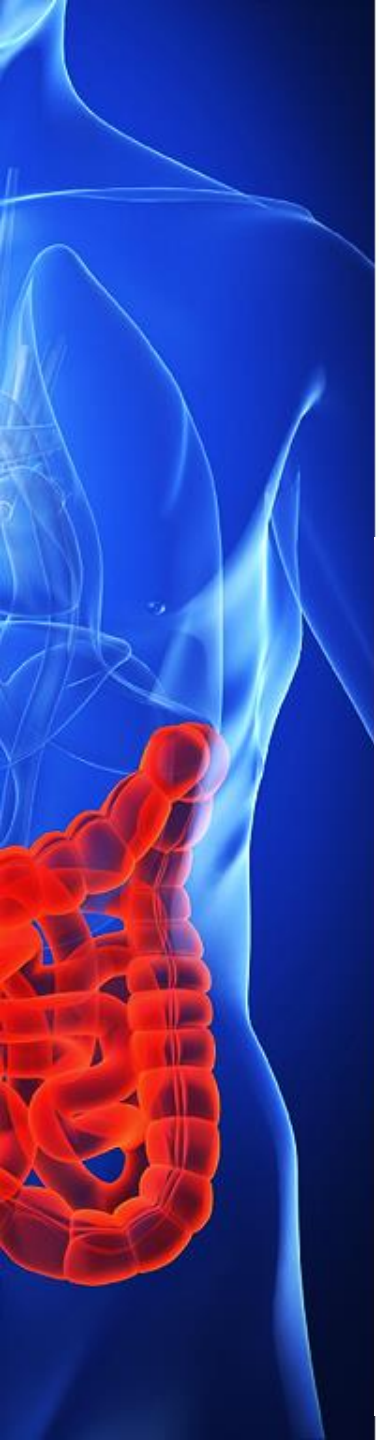


Rapporto Gram + / Gram -



Poi vedere il rapporto tra Gram+/Gram-. I Firmicutes per la maggior parte sono dei Gram+ con qualche eccezione di Gram-, mentre i Bacterioidetes sono principalmente dei Gram-.

Di conseguenza quando si avrà un rapporto di Gram+/Gram- aumentato è molto probabile che il paziente abbia un aumento dei Firmicutes, quindi una disbiosi fermentativa, viceversa, quando il rapporto tra Gram+/Gram- è molto diminuito si avrà una prevalenza di Bacteriodetes e quindi una disbiosi di tipo putreffativo.



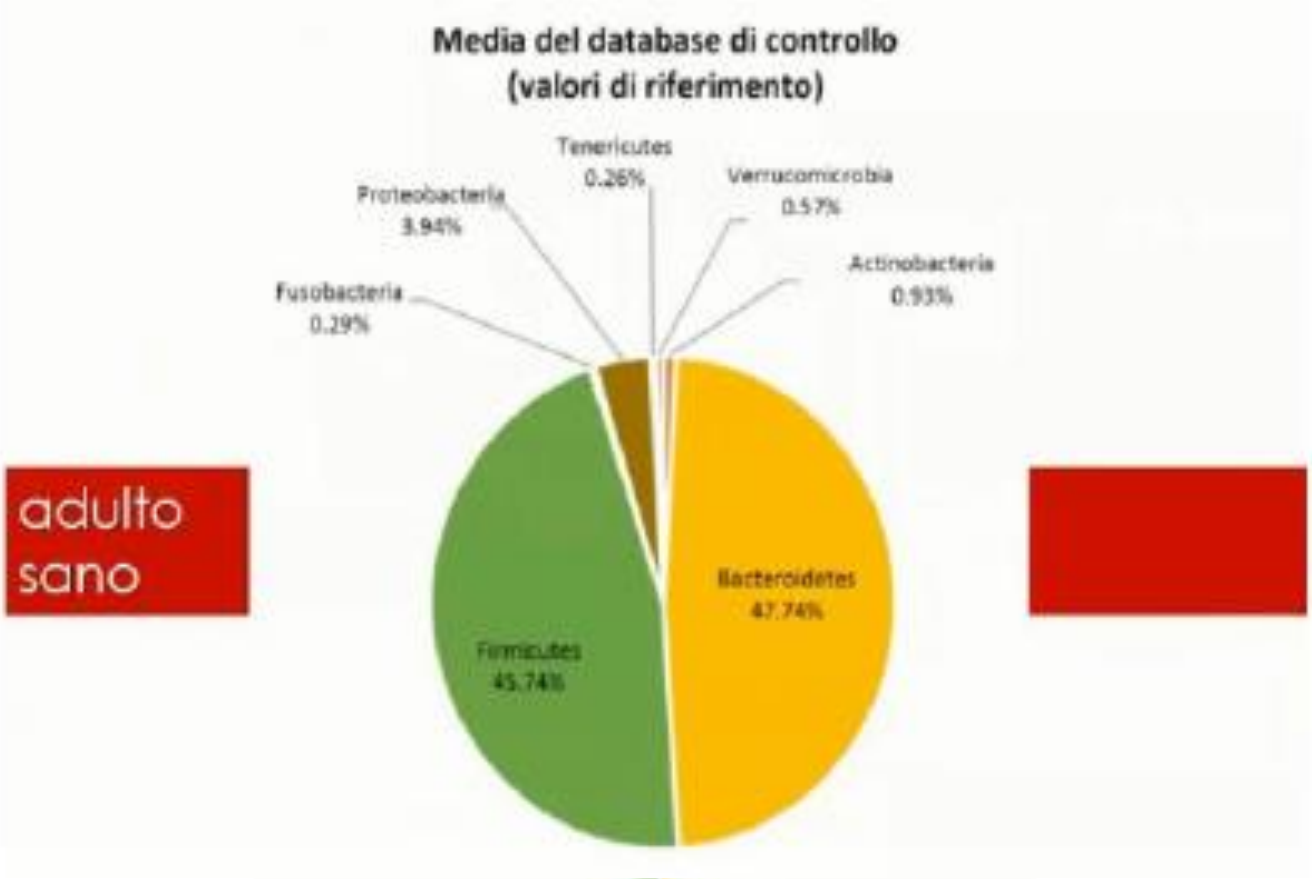
Tassonomia dei Phyla

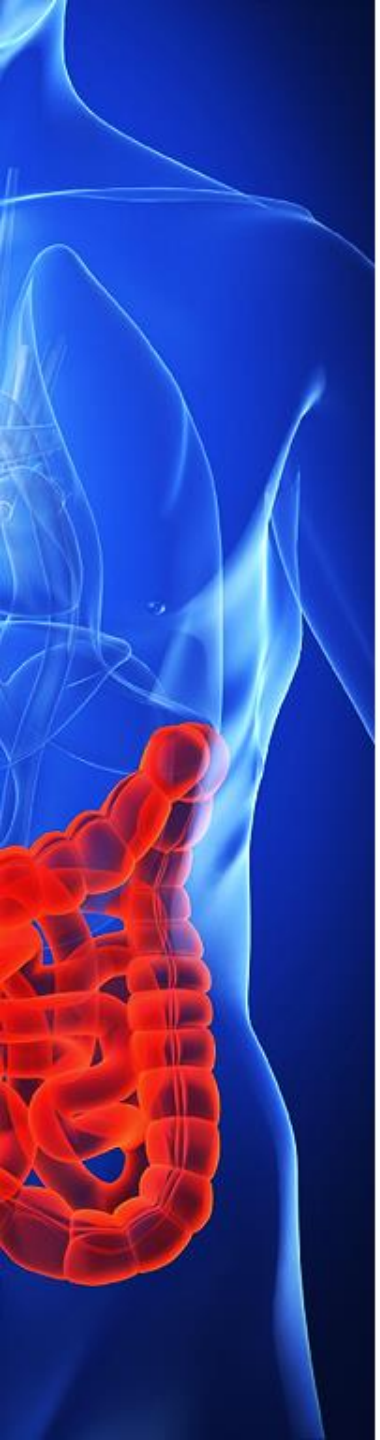
il TEST MyMicrobiota TASSONOMIA DEI PHYLA

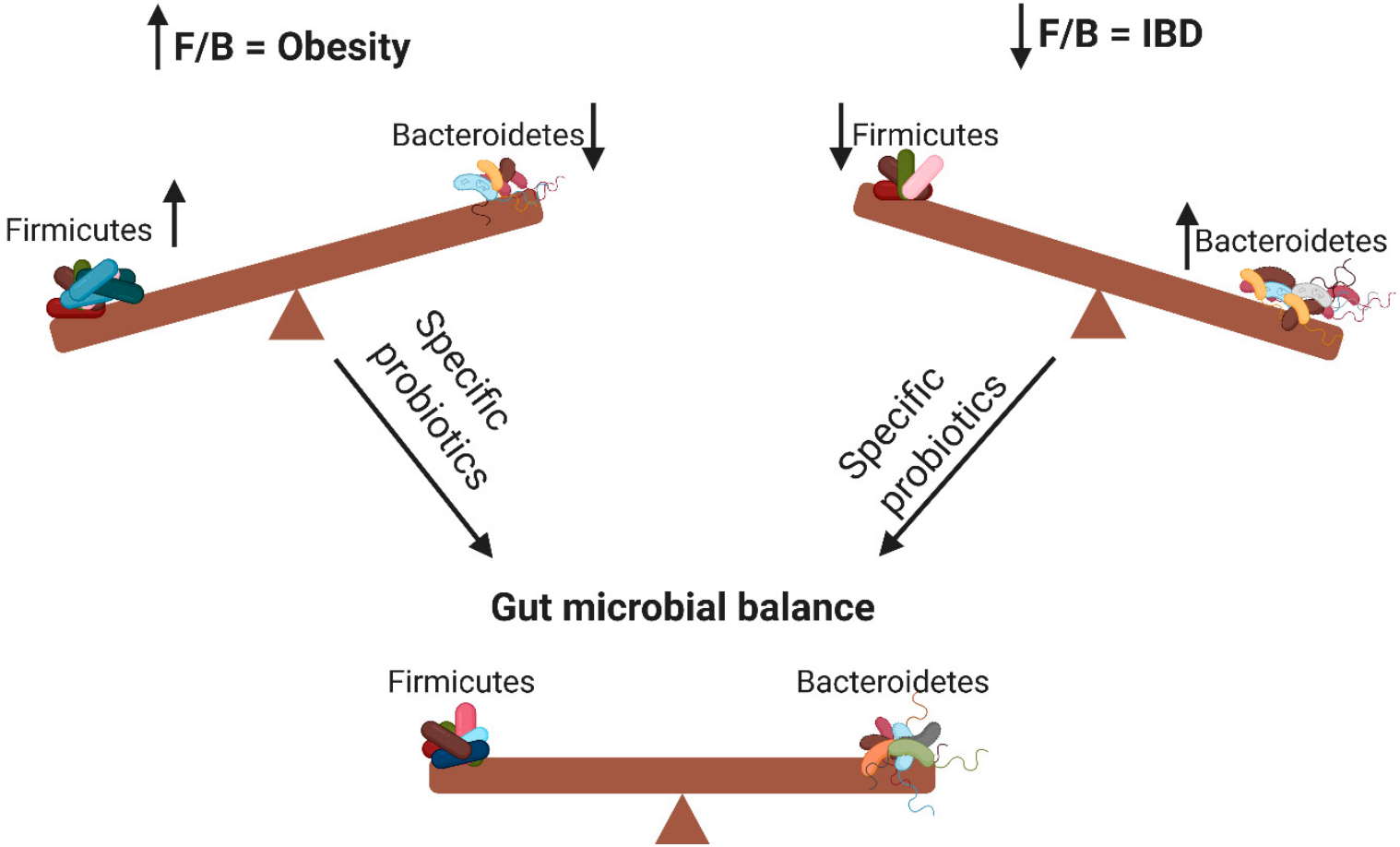
Serve a dedurre di quanto il soggetto si discosta dalla popolazione sana

I phyla principali e i loro valori normali nei **SOGGETTI ADULTI** sono:

Bacteroidetes tra 45-50%	Verrucomicrobia 0.8% circa
Firmicutes tra 42-48%	Proteobacteria tra 2-4%
Actinobacteria 1% circa	Fusobacteria 0.3%

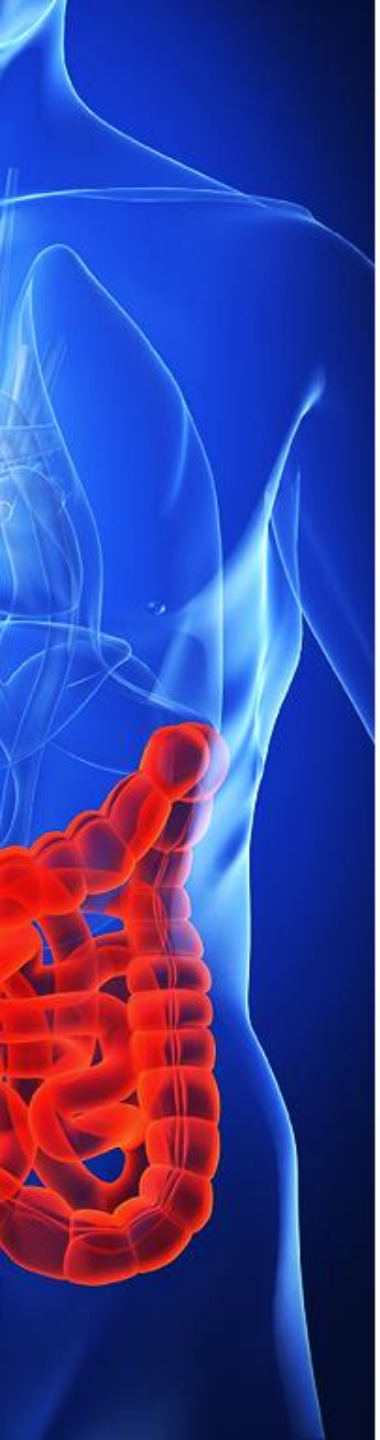




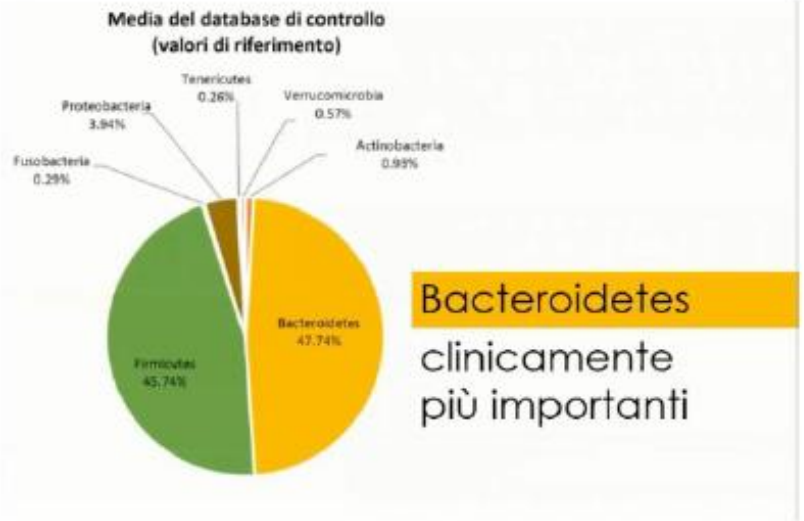


La torta rappresenta la normalità di un adulto sano. Imparando molto bene i valori in percentuale della normalità possiamo analizzare il grafico della torta del paziente. siamo in grado di dedurre

se il paziente presenta una disbiosi putrefattiva quando aumentano i Bacterioidetes o una disbiosi fermentativa quando aumentano i Firmicutes. Inoltre possiamo dedurre il rapporto tra Gram+ e Gram- e il rapporto tra Firmicutes e Bacterioidetes, in quanto i Firmicutes sono principalmente Gram+ e i Bacterioidetes sono principalmente Gram-.

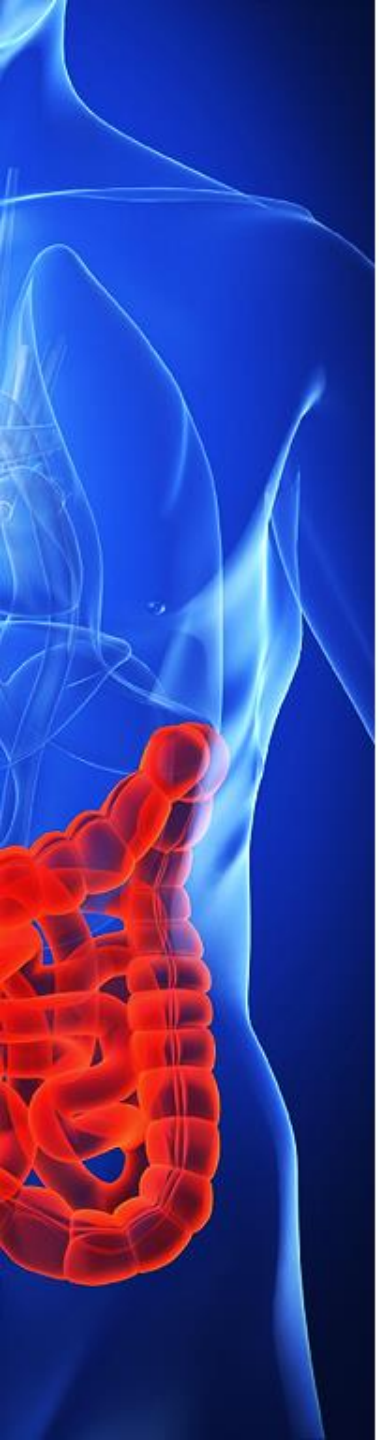


BACTERIOIDETES



Bacteroides

Il bacteroides è il batterio maggiormente presente nel nostro intestino. Ha un valore normale di 31,5%. Nella normalità un terzo del microbiota deve essere formato dal bacteroides. Quando è in eccesso, essendo un Gram-, può causare delle forti infiammazioni intestinali, insulino resistenza, disbiosi putrefattiva e aumentata produzione di polisaccaridi. È un batterio tipico dei carnivori perché cresce principalmente con diete ricche di proteine animali.



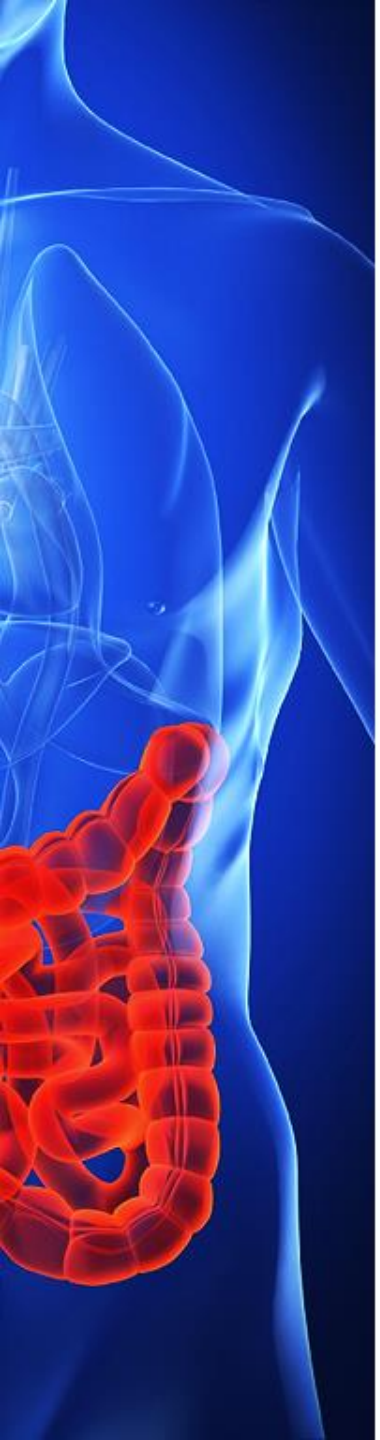
Si abbassa con specifici probiotici e diete ricche di verdure perché è antitetico alla Prevotella, che è l'altro bacteroidetes che si deve analizzare. C'è una perfetta correlazione inversamente proporzionale, cioè all'aumento del Bacteroidetes la Prevotella diminuisce e viceversa.

Sapendo che la Prevotella cresce con le verdure, fare una dieta ricca di verdure fa abbassare il Bacteroides. Scende anche con diete ricche di carboidrati e lipidi, perché i carboidrati e lipidi fanno crescere soprattutto i Firmicutes.

La sua dominanza costituisce l'**Enterotipo di tipo 1.**

La slide riporta un quadro disbiotico nel quale si ha una disbiosi di tipo putrefattivo in cui si ha un aumento del bacteroides, cioè al posto di 31,5% si hanno valori raddoppiati. Quando si ha un quadro del genere sappiamo già cosa fare a livello dietetico e a livello terapeutico.

Più il Bacteroides è alto più la Prevotella è bassa.



Prevotella - Prevotellacee

Bacteroidetes Prevotelle - Prevotellacee

Batteri di origine buccale che in caso di infiammazioni e/o scarso igiene della bocca possono passare nell'intestino creando un microbiota altamente infiammatorio e insulinoresistenza

Crescono soprattutto con le verdure crude

Si abbassano con specifici probiotci, con diete ricche di proteine animali (è antiteico a Bacteroides)

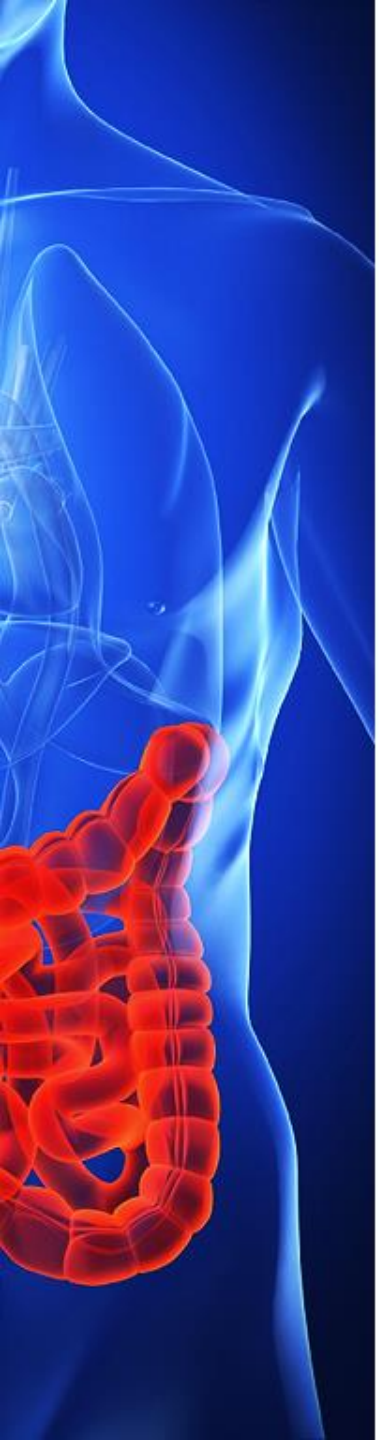
Il valore normale delle Prevotelle è circa 4%, mentre quello delle Prevotellacee circa 1.7%

La sua dominanza all'interno del microbiota intestinale è tipica del cosiddetto ENTEROTIPO DI TIPO 2

Sono i batteri più importanti della torta dei Bacteroidetes. Sono dei batteri fondamentalmente di origine buccale. Quando c'è uno stato di scarsa igiene della bocca possono passare nell'intestino creando un microbiota altamente infiammatorio e insulino resistente. Questi batteri crescono soprattutto con le verdure crude.

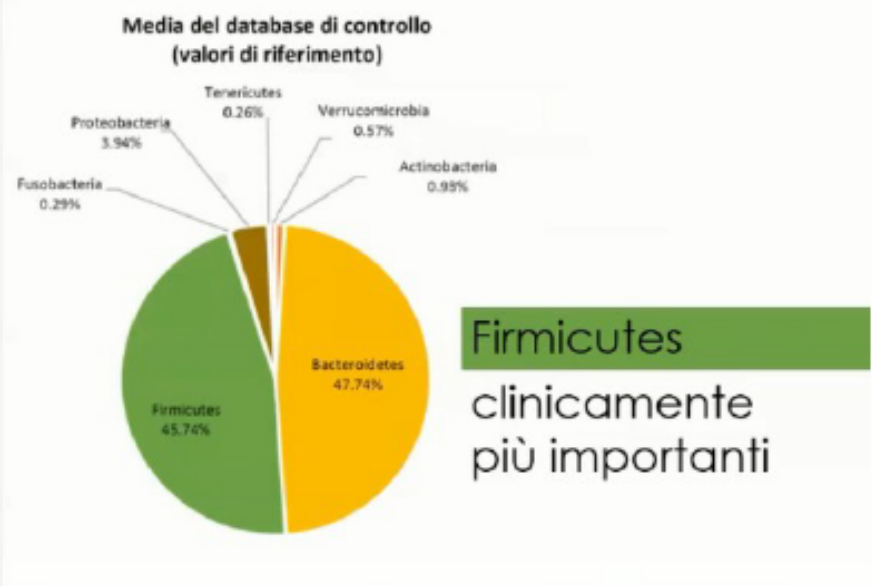
SI abbassano con specifici probiotici e diete ricche di proteine animali perché è antitetico ai Bacteroides. Il loro valore normale per le Prevotelle è circa 4%, e per le Provellacee è circa 1,7%.

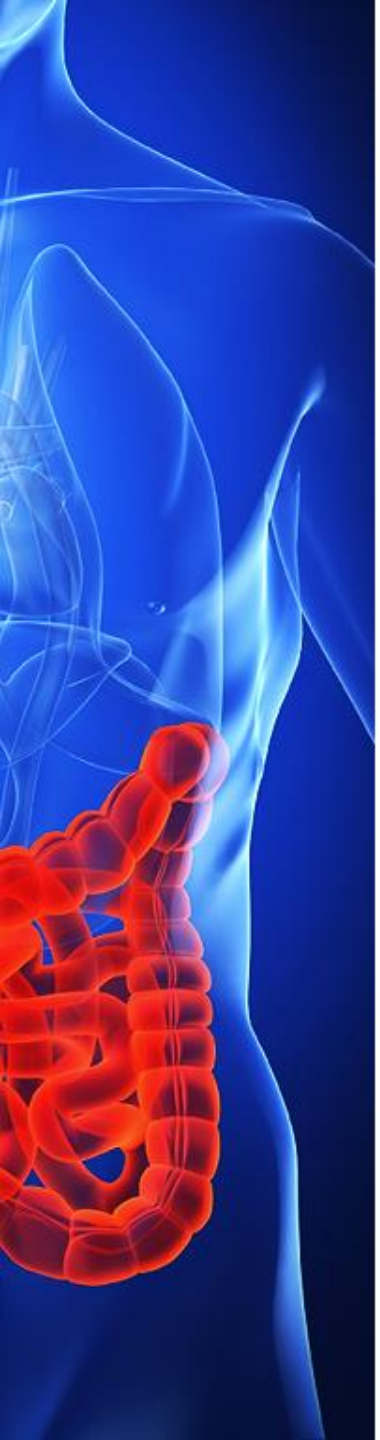
La sua dominanza è tipica dell'**Enterotipo di Tipo 2**.



La slide fa vedere un microbiota alterato, dove la Prevotella presenta un valore del 70% al posto del 4%. Vedendo questo quadro, possiamo dire che la Prevotella facendo parte dei Bacteroidites, che sono principalmente dei Gram-, ha una altissima gram negatività.

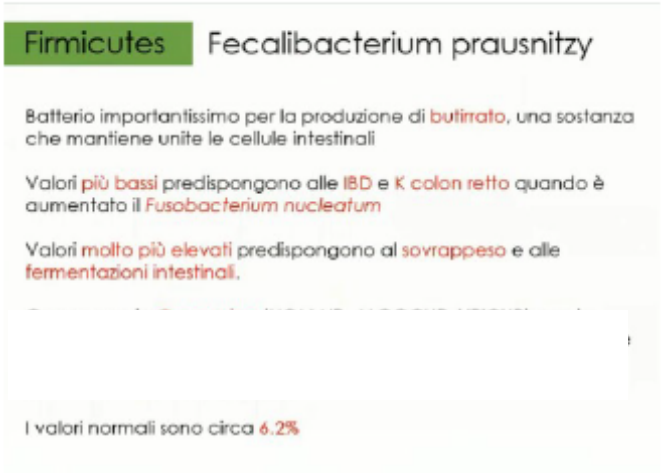
FIRMICUTES





Ne esistono moltissimi. Verranno riportati quelli che normalmente tendono ad alterarsi più frequentemente nei test.

Fecalibacterium Prausnitzy



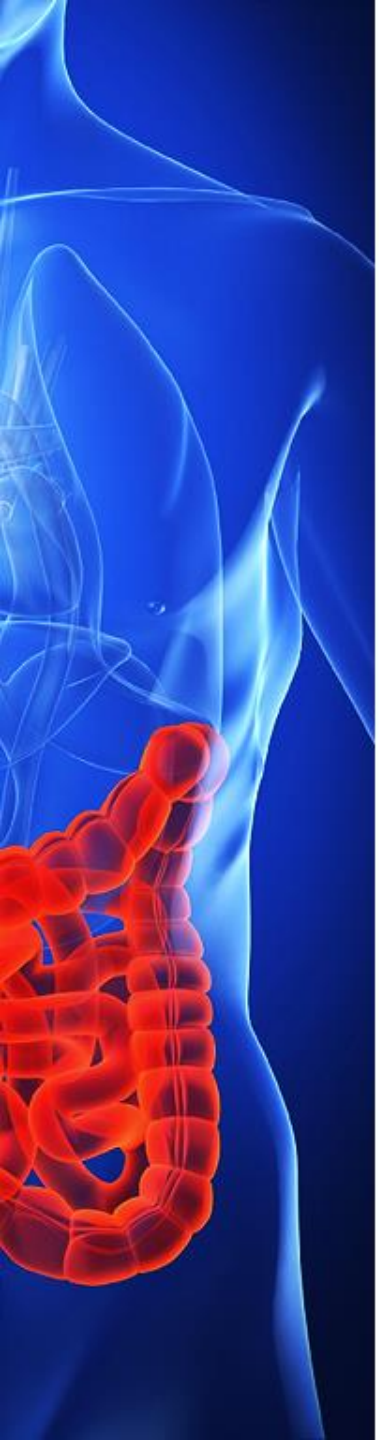
Questo è un Firmicutes molto importante perché ha un ruolo molto protettivo perché produce il butirrato. Il butirrato è una sostanza che mantiene unite le cellule intestinali. Nel momento in cui le cellule intestinali sono unite le sostanze tossiche non possono passare.

Quando questo batterio si abbassa predispone alle IBD. Se l'abbassamento del Fecalibacterium si associa al Fusobacterium Nucleatum è molto probabile che il paziente possa sviluppare un carcinoma del colon-retto.

I valori normali sono il 6,2%, ma si possono avere dei casi con valori molto più alti, anche 25 – 30 – 40%. In questo caso essendo un butirrato produttore e anche un fermentatore, valori elevati, predispongono al sovrappeso e alle fermentazioni intestinali.

Tende a crescere con la curcumina, quindi possiamo dare Normal, Magical e Lipical, Decresce con alcuni probiotici e le diete iperproteiche perché faranno crescere la fetta della torta opposta che è quella dei Bacteroidites.

Il valore normale è circa 6,2%.



Ruminococcacee

Altri batteri che spesso sono alterati nel test mymicrobiota sono le Ruminococcacee. Sono batteri altamente fermentatori e il loro aumento notevole può essere implicato in alcune forme di stitichezza e/o obesità.

Molto spesso queste due forme quando i Ruminococcacee sono molto alti sono associate. Sono le classiche persone obese che dicono che ingrassano con l'aria, cioè qualunque cosa mangia si gonfiano.

Firmicutes Ruminococcacee

Batteri altamente fermentatori→ un loro aumento notevole può essere implicato in alcune forme di stitichezza e/o obesità

Crescono principalmente con verdure crude, legumi, cereali integrali, pesche, mele, pere, albicocche e alcuni probiotici

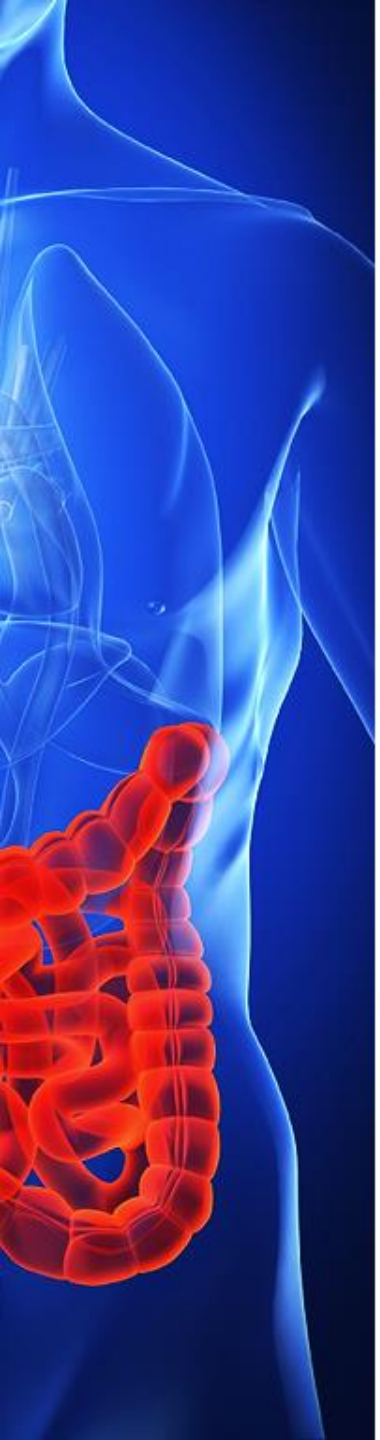
Decrescono con specifici probiotici e diete iperproteiche

I loro valori normali sono circa 6.5%

La loro dominanza all'interno del microbiota intestinale è tipica del cosiddetto ENTEROTIPO DI TIPO 3

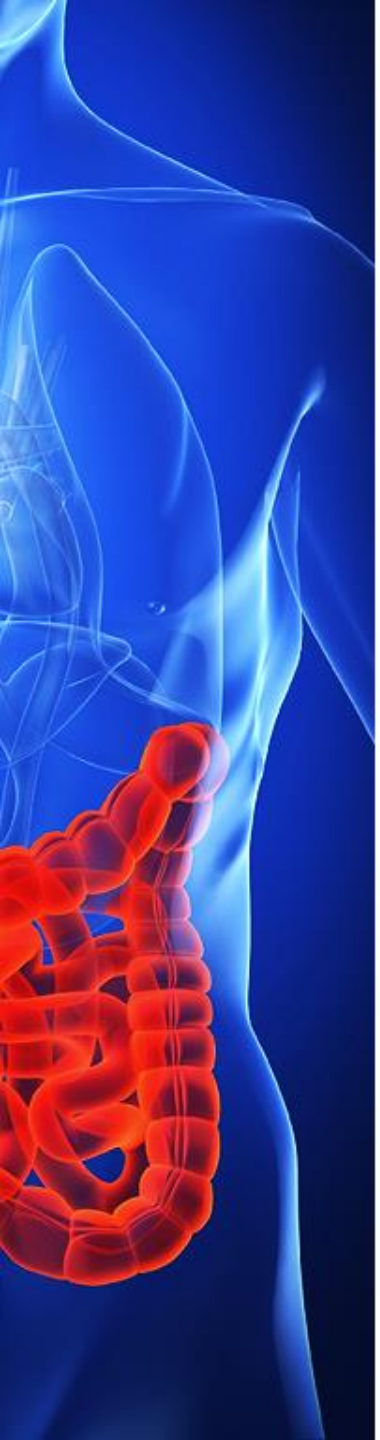
Quando si va a indagare che alimentazione osservano, viene fuori che mangiano in particolare verdure crude, legumi, cereali integrali, alimenti ricchi di pectine, come le mele, le pere, le pesche, le albicocche, ed alcuni probiotici, mentre decrescono con specifici probiotici e diete preproteiche.

I **valori normali delle Ruminococcacee sono circa 6,5%**, più o meno come i Fecalibacterium Prausnitzy. La loro dominanza costituisce il cosiddetto **Enterotipo di Tipo 3**.

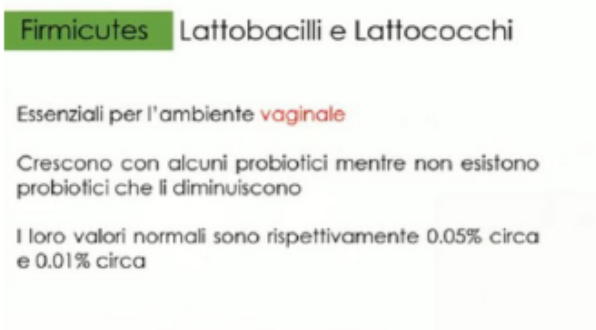


La dominanza *Bacteroides* segnala un enterotipo 1, la dominanza *Prevotella* segnala un enterotipo 2 e la dominanza *Ruminococcus* segnala un enterotipo 3 (Arumugam et al., 2011, Nature).

La slide mostra un quadro con aumento delle Ruminococcacee, ed essendo parte dei Firmicutes si avrà una torta verde aumentata. In questo paziente si dovrà ridurre certi tipi di carboidrati, fibre integrali, legumi e cereali, e cercare di aumentare i Bacteroidoites che sono molto bassi rispetto al valore normale del 31%. Questi pazienti rispondono molto bene alle diete iperproteiche.

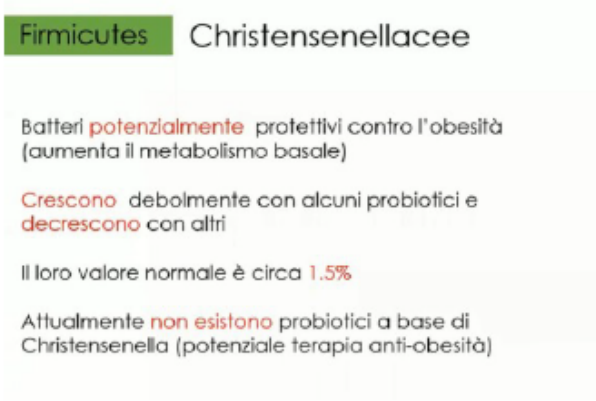


Lattobacilli e Lattococchi



I lattobacilli e i Lattococchi sono fondamentali per l'ambiente vaginale. **I loro valori normali sono rispettivamente 0,05% e 0,01%.**

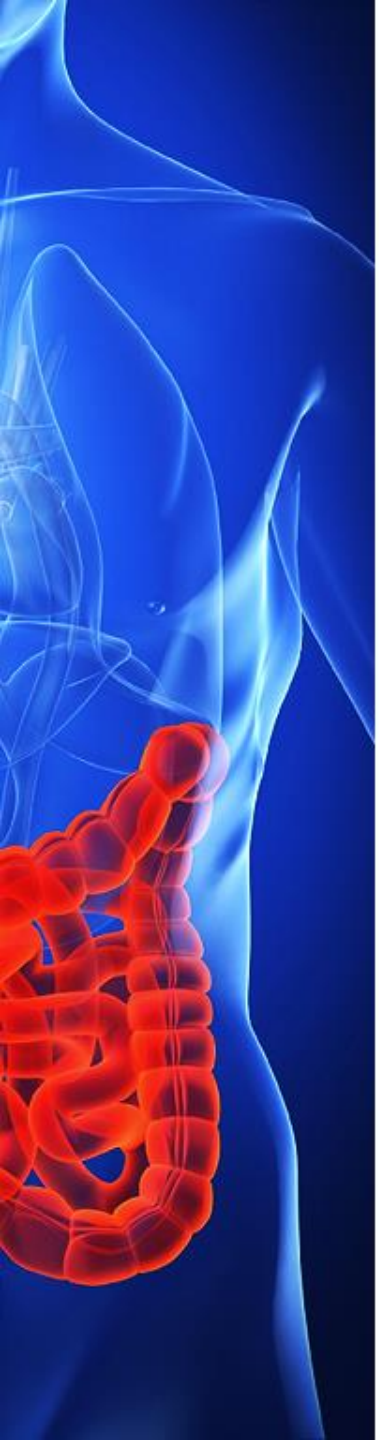
Christensenellacee



Sono batteri che potenzialmente sono protettivi verso l'obesità, infatti sembrano aumentare il metabolismo basale. Anche se sono dei Firmicutes, dei fermentatori, quando sono in eccesso il paziente può presentare delle disbiosi fermentative.

Il loro valore normale è circa 1,5%. Crescono con alcuni probiotici anche se debolmente e decrescono con altri, e allo stato attuale non si hanno probiotici a base di Christensenella, cosa che in teoria potrebbe essere una potenziale terapia antiobesità.

Si è visto che pazienti che hanno torte di Firmicutes molto alte, quindi tendenza a sviluppare disbiosi di tipo fermentativo, però hanno le Christensenelle abbastanze alte tendono comunque a sviluppare un sovrappeso minore.



Dorea

Firmicutes Dorea

Batterio epatoprotettore→ se basso paz a rischio steatosi→

Cresce con lo zenzero e alcuni probiotici decresce con altri

Il suo valore normale è 0.3% circa

È un batterio epatoprotettore. Infatti quando è basso il paziente è a rischio di steatosi epatica. Potrebbe diventare in futuro un marker di steatosi. Cresce con lo zenzero, con alcuni probiotici e decresce con altri.

Il suo valore normale è 0,3% circa.

Roseburia – Lachnospira

Firmicutes Roseburia - Lachnospira

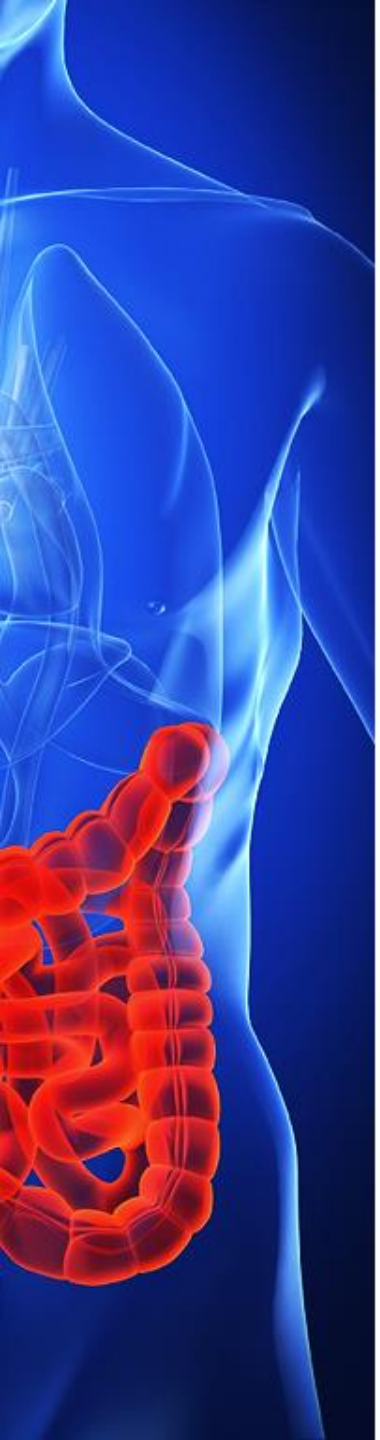
Sono batteri produttori di acido solfidrico

Un loro aumento importante può provocare diarree con flatulenze maleodoranti

Aumentano con diete ricche di carboidrati e grassi

Diminuiscono con alcuni probiotici e diete iperproteiche

I loro valori normali sono rispettivamente del 2% e 1.1%

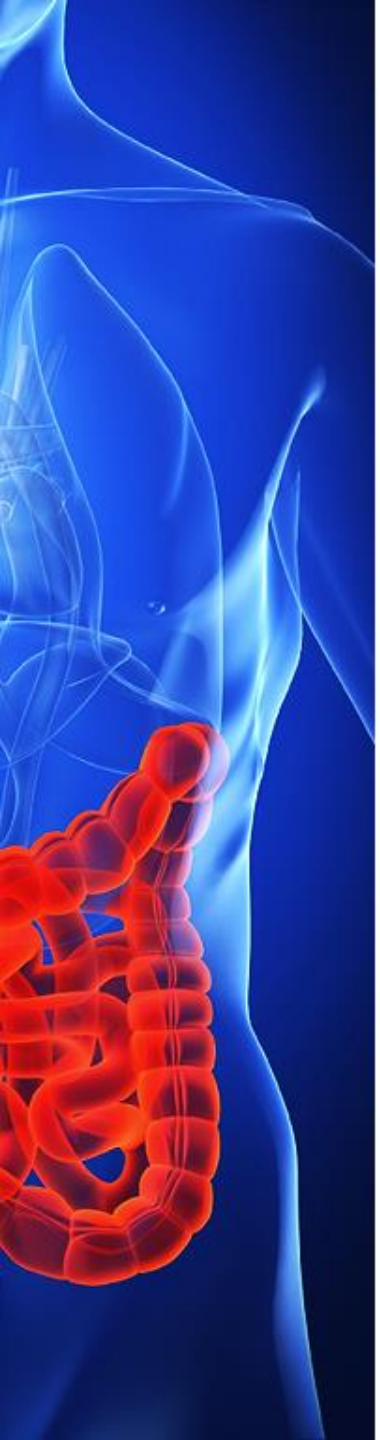


Sono batteri produttori di acido solfidrico. Se aumentano moltissimo, essendo dei Firmicutes e produttori di acido solfidrico, possono formare delle disbiosi di tipo fermentativo, e quindi provocare diarree e flatulenze maleodoranti.

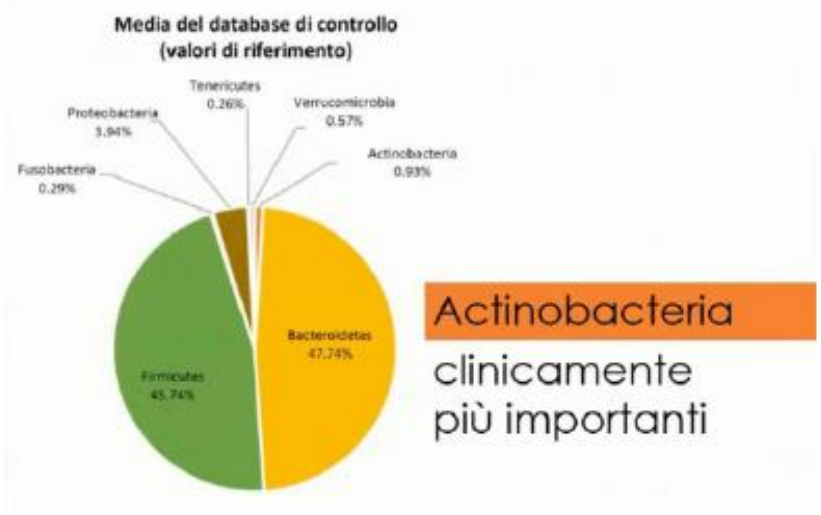
Aumentano con diete ricche di carboidrati e grassi, mentre diminuiscono con alcuni probiotici e diete iperproteiche.

I loro valori normali sono rispettivamente del 2% e 1,1% .

Normalmente fanno parte, quando aumentano molto, della cosiddetta *Triade Fermentativa, cioè Fecalis Bacterium, Roseburia e Lachnospira.*

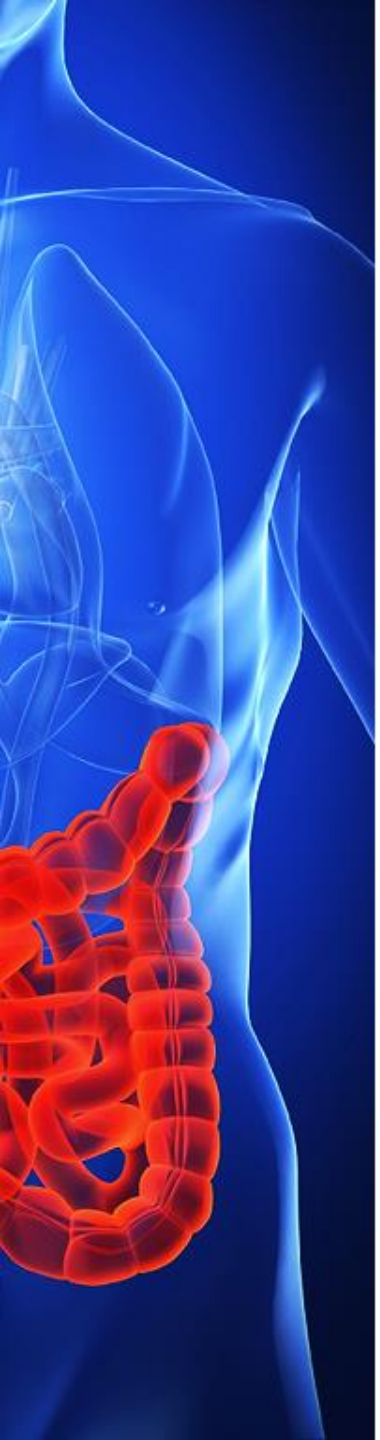


ACTINOBACTERIA



Analizziamo il film degli Actinobacteria. Quelli più importanti sono i Bifidobatteri.

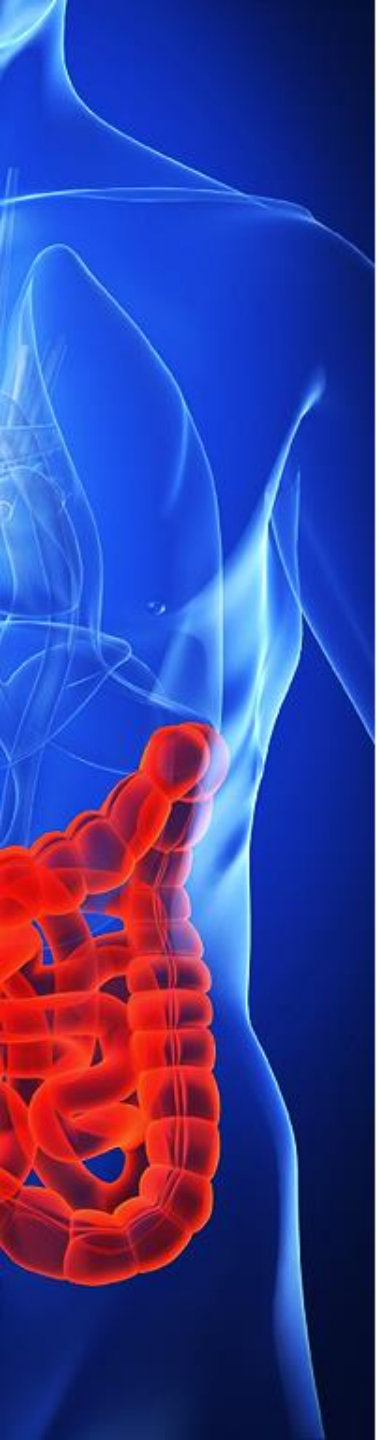
Bifidobatteri



Sono batteri fondamentali perché sono molto utili soprattutto in età pediatrica per prevenire una serie di malattie immunitarie e infezioni, malattie autoimmuni, dermatologiche e allergiche.

Sono importantissimi nel neonato e nel bambino perché crescono con il latte materno e con probiotici a base di bifidi. Il latte materno contiene dei prebiotici che fanno crescere i bifidobatteri, mentre decrescono con il latte artificiale e abuso di antibiotici in età pediatrica.

Il loro valore normale nel microbiota dell'adulto è 0,6% circa, mentre nel bambino tendono ad essere più alti per difenderli da tanti patogeni.



VERRUCOMICROBIA

Tra i Verrucomicrobia quello più importante è l'Akkermansia Muciniphila.

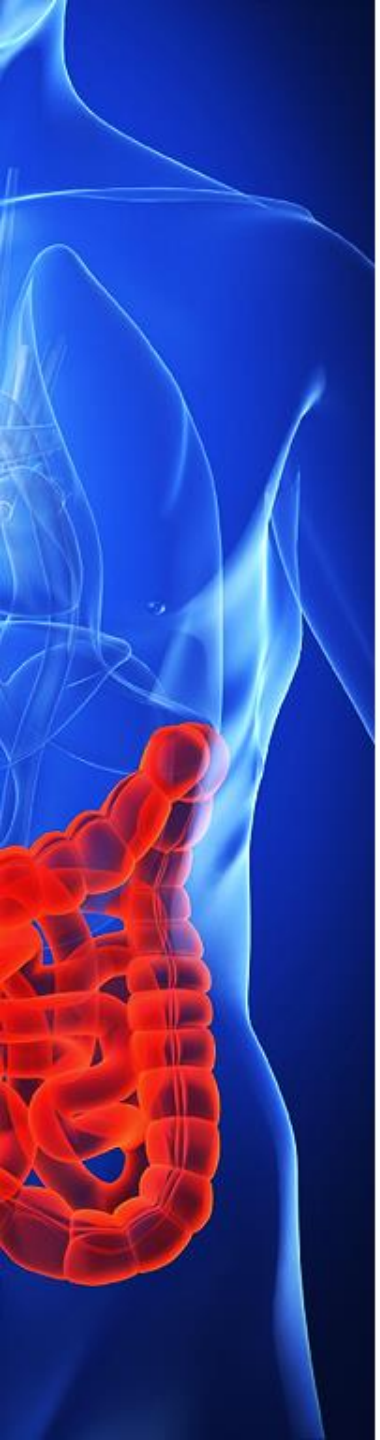
Akkermansia Muciniphila

Verrucomicrobia Akkermansia muciniphila

Batterio che insieme al *Fecalibatterium prausnitzy* coopera per mantenere unite le cellule intestinali prevenendo così molte patologie

Decresce con l'alcool (30 grammi/die diminuiscono l'Akkermansia di 100 volte!)

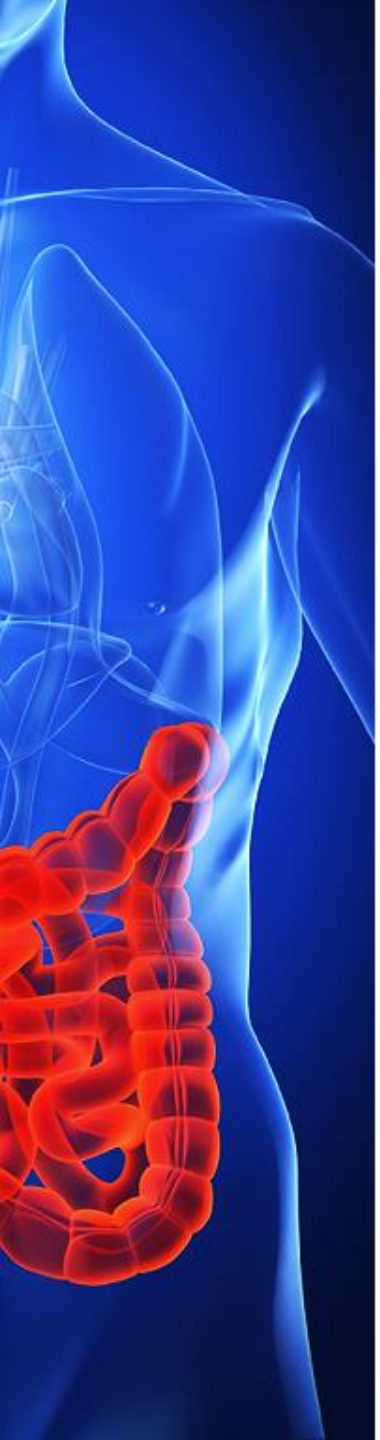
Il suo valore normale è 0.55%



È un batterio che cooperando insieme al Faecalisbacterium Prausnitzy tende a mantenere unite le cellule intestinali, quindi è fondamentale per evitare la permeabilità intestinale. A livello pratico le sostanze che lo fanno crescere sono innanzitutto la Berberina la metformina, la Quassia amara e la Juaglans Regia . La Quassia amara e la Juglan Regia tendono a far crescere anche il Faecalisbacterium Prausnitzy.

Anche il digiuno fa cresce l'Akkermansia perché è un batterio che mangia muco. Quando si digiuna l'Akkermansia Muciniphila mangia il muco e l'organismo reagisce producendo più muco formando uno strato protettivo in modo che le sostanze tossiche non possono passare tra una cellula e l'altra. Inoltre abbiamo un specifico probiotico. Descresce molto con l'alcol. Infatti 30gr di alcol al giorno diminuiscono l'Ahhermansia di 100 volte

Ha un valore normale di 0,55%.



PROTEOBACTERIA

I proteobacteria è la classe filum detti patogeni. Clinicamente quello più importante, che tende a manifestarsi con una certa frequenza è l'Escherichia Coli.

Escherichia Coli

Proteobacteria Escherichia coli

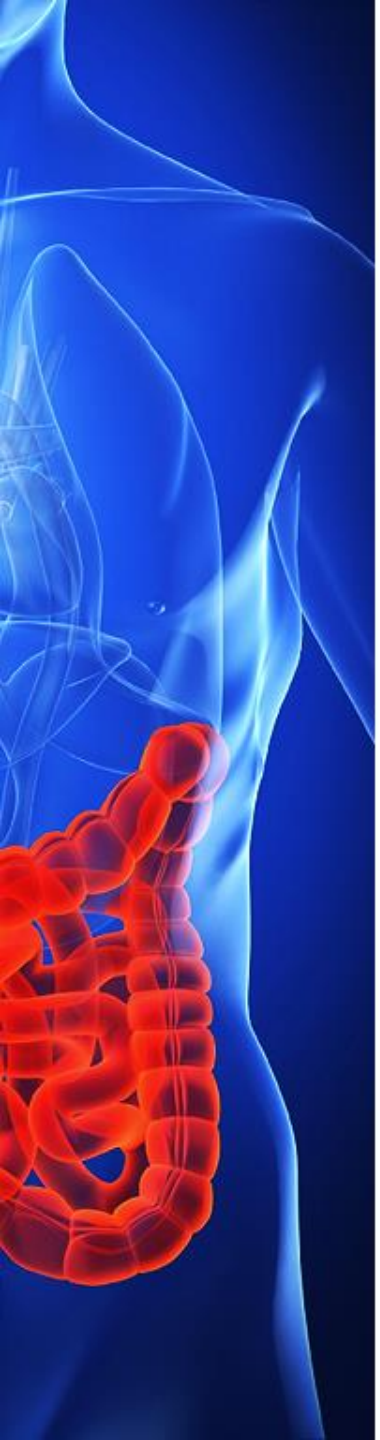
Batterio spesso elevato in caso di IBD o di infezioni delle vie urinarie

Un suo significativo aumento può portare a una notevole Gram negatività

Si alza quando ci sono importanti alterazioni della catena causale mucose

Si abbassa oltre che con gli antibiotici con probiotici e l'intervento sul cuore di catena

I suoi valori normali sono pari a 1.1% circa



È il proteobatterio più importante ed è anche quello che in tantissime situazioni viene alterato nel test.

Ha un valore normale di 1,1% circa.

In certi casi arriva anche al 20 – 30%. È un batterio che spesso è elevato in caso di IBD, cioè nelle infiammazioni croniche intestinali. È un Gram – e quindi non fa altro che aumentare la negatività del paziente.

Questa gram negatività porta ad un aumento delle Lts in circolo o in caso di IVU (Infezioni delle Vie Urinarie).

Si alza anche quando abbiamo una importante alterazione delle Catena Causale. Tutto le volte che c'è un netto aumento dell'E. Coli abbiamo un paziente che presenta la catena causale alterata e di conseguenza dobbiamo ripristinare l'equilibrio delle mucose.

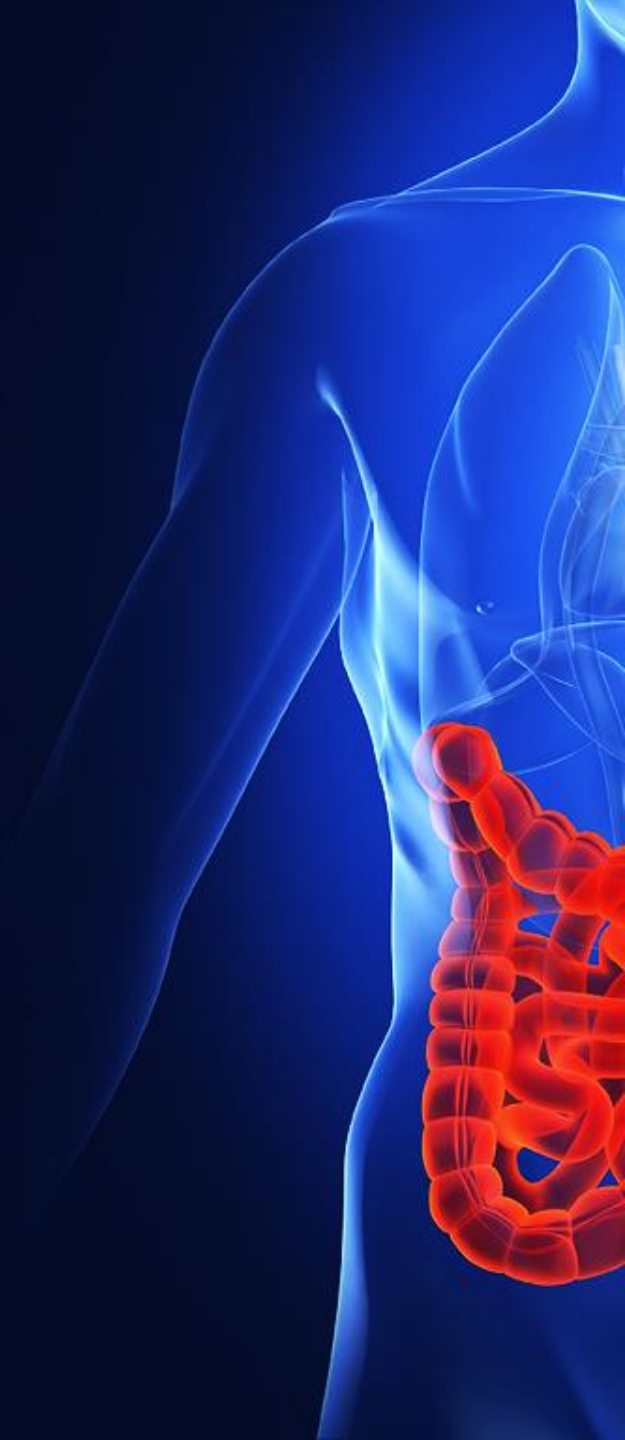
Si abbassa con gli antibiotici ma anche con i probiotici. Inoltre è importante intervenire sul Cuore di Catena.

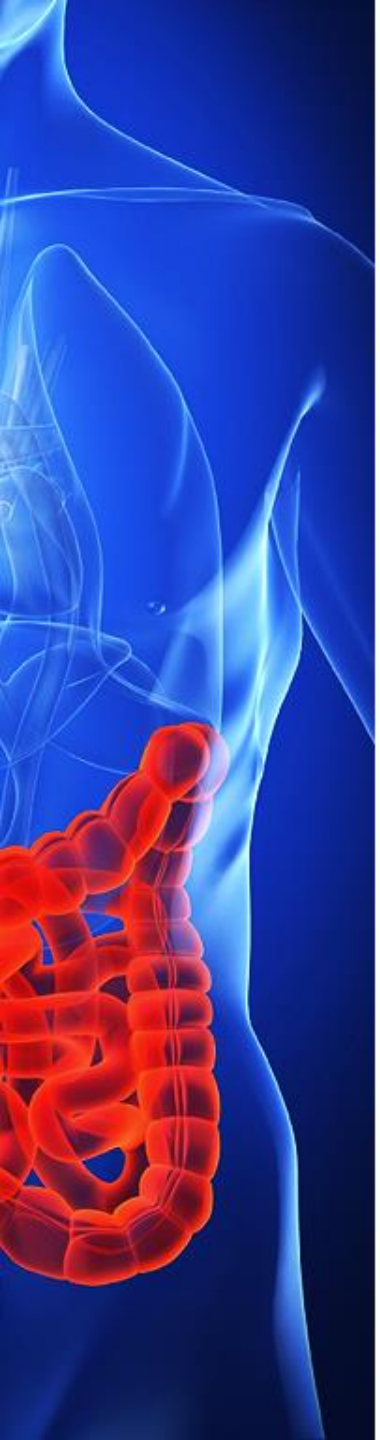
I medicinali che ripristinano l'integrità anatomica delle mucose e drenano le mucose hanno la funzione a lungo andare di diminuire l'E. Coli.

Il valore normale è di 1,1% circa. In determinate situazioni può arrivare anche a 30 – 40%.

Le Catene Causali sono un metodo per leggere la patologia secondo la Medicina Funzionale e vengono raffigurate con un organo centrale, detto Cuore di Catena Causale perchè responsabile del quadro clinico del paziente, al quale si collegano altri organi, o bersagli, con i quali è funzionalmente e/o morfologicamente legato.

È stato ricordato che «la cistite è causata prevalentemente dall'Escherichia coli ***ma a volte anche dal frequente ricorso agli antibiotici, il cui uso eccessivo ha portato, negli ultimi 50 anni, a un progressivo sviluppo di resistenze da parte degli agenti microbici che dovrebbero contrastare***. Da qui è nata la necessità di sviluppare nuove opportunità terapeutiche, soprattutto per fare prevenzione, che possano limitare il più possibile l'intervento farmacologico». *Lactobacillus Paracasei ha dimostrato di avere un'ottima attività inibitoria contro Escherichia coli e Staphilococco (anche Klebsiella) e di favorire l'equilibrio della flora intestinale con il mirtillo rosso (cranberry), che contribuisce alla funzionalità delle vie urinarie e il D-mannosio*. Quest'ultimo è uno zucchero semplice estratto dalla betulla che, una volta ingerito, mostra uno scarso assorbimento. In sede intestinale, interagisce con i batteri responsabili delle infezioni, tra cui Escherichia coli, riducendone il passaggio in vescica o impedendone l'adesione alle pareti in caso di trasmigrazione degli stessi.





Desulfovibrio

È un batterio che normalmente quando le Prevotella è presente non crea danni. Quando la Prevotella è pari a zero crea ulcerazioni a livello delle mucose perché produce acido solfidrico in maniera abbondante.

Ha un valore normale pari a 0,16%.

Se la Prevotella va a zero il Desulfovibrio può arrivare a valori molto alti.

Proteobacteria Desulfovibrio

Un suo aumento è pericoloso quando Prevotella è pari a zero perché in tal caso può creare ulcerazioni alle mucose

I suoi valori normali sono pari a 0.16%

Hafnia

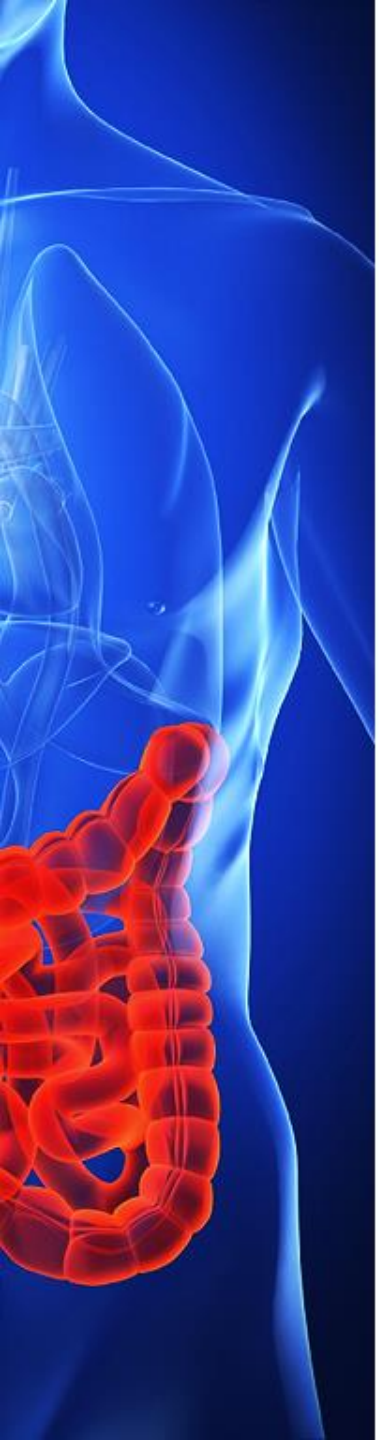
Proteobacteria Hafnia

Batterio che trasforma l'istidina in istamina mediante l'enzima istidina decarbossilasi

Un suo notevole aumento può portare a produzione di massicce quantità di istamina con quadri simil allergici

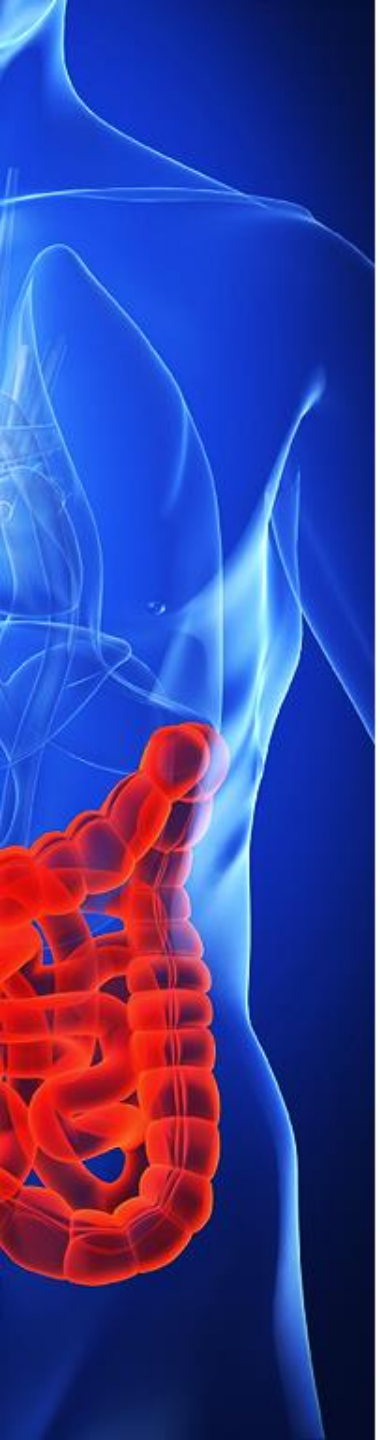
I valori normali sono pari a 0.11%

NB: I Proteobatteri assumono rilevanza quando presenti in grandi quantità.
Un minimo devono essere presenti per mantenere «allenato» il nostro sistema immunitario



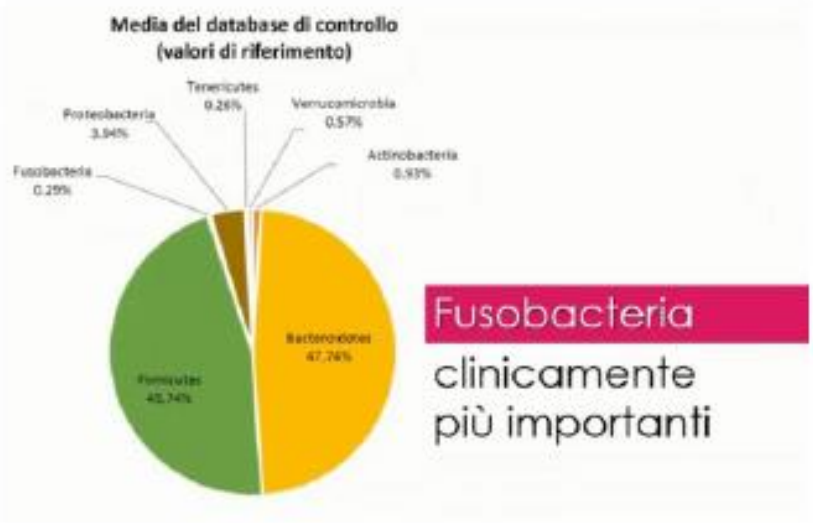
È un batterio che trasforma tramite l'enzima istidinadecarbossilasi l'istidina in istamina. Ha un valore bassissimo, 011%, però se inizia ad aumentare a dismisura da la così detta sindrome Sgombroide o Staminergica, in cui aumentano a dismisura i livelli di istamina.
Il paziente può presentare orticarie, shock anafilattico, dermatiti atopiche, diarrea. Sono tutti segni legati alla massiccia produzione di istamina quando ogni volta che il paziente introdurrà proteine, quindi aminoacidi. L'istidina essendo un aminoacido è contenuto nei cibi proteici.

I Proteobacteri devono essere compresi tra il 2,5 – 3%.
È importante che ci siano perché il nostro sistema immunitario deve essere allenato. Non dobbiamo essere circondati solo da batteri benefici ma anche da batteri patogeni. Ovviamente assumono una rilevanza quando sono presenti in grande quantità, cioè quando la torta marrone, cioè quella dei Proteobatteri tende ad aumentare a dismisura.



FUSOBACTERIA

Passiamo ad analizzare i Fusobacteria. Quello clinicamente più importante è il Fusobacterium Nucleatum.



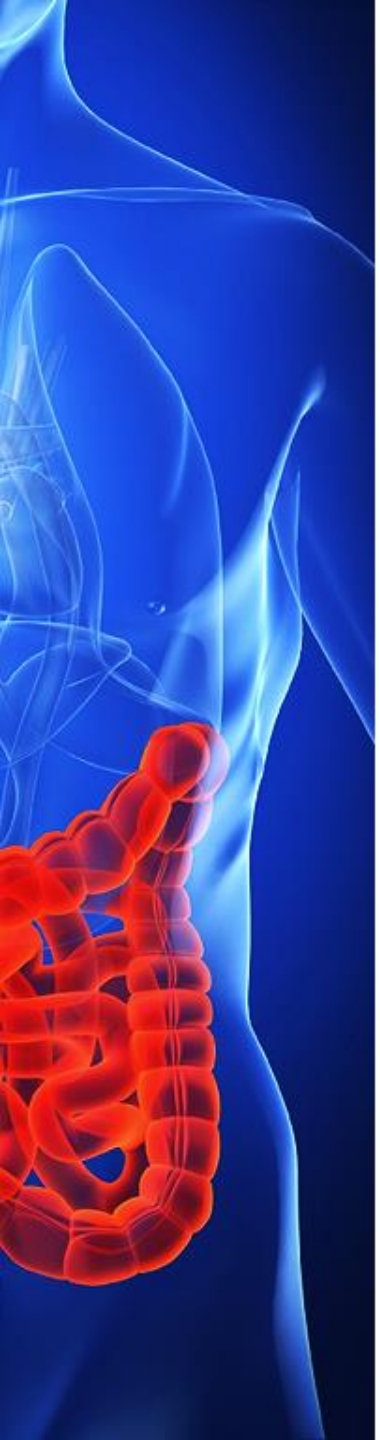
Fusobacterium Nucleatum

Fusobacteria Fusobacterium nucleatum

Batterio il cui aumento(specie se associato a diminuiti valori di *Fecalibacterium prausnitzy*) può portare in maniera direttamente proporzionale a un rischio aumentato di

- polipi del colon
- K colon retto
- resistenza alla chemioterapia in caso di tale tumore e maggior probabilità di metastasi

I valori normali sono pari a 0.26% circa

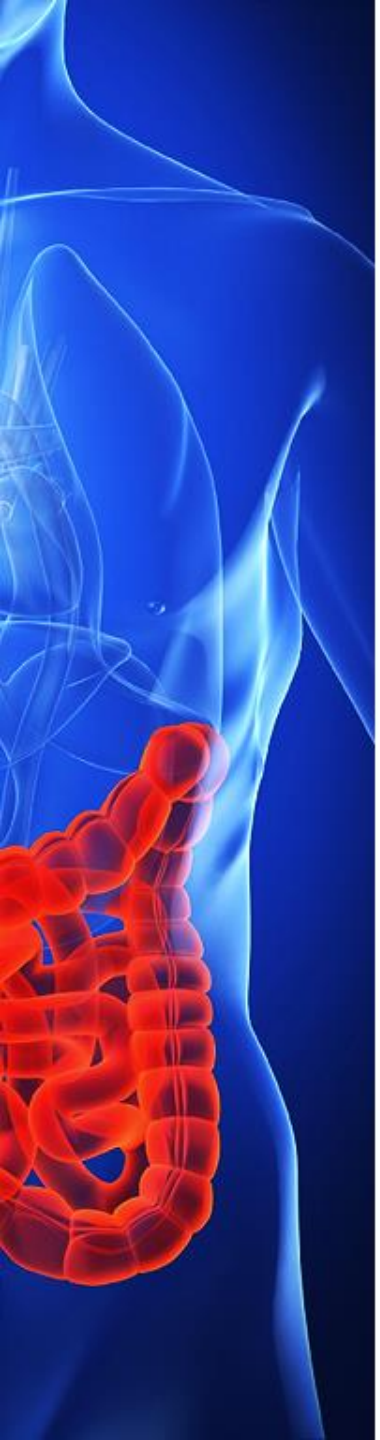


È un batterio che se aumenta, soprattutto associato ad una diminuita produzione di Fecalibacterium Prausnitzy, incide in maniera direttamente proporzionale con un rischio di un aumento di polipi del colon e del carcinoma del colon- retto. Una volta che il paziente avrà sviluppato un carcinoma colon-retto si avrà una resistenza alla chemioterapia e tendenza maggiore a fare metastasi in maniera direttamente proporzionale, ovvero tanto più è elevato tanto più si può predire che questo paziente può avere queste problematiche. **I valori normali sono pari a 0,26% circa**. In determinate situazioni può arrivare a 5-7%. È molto importante azzerarlo. In questo quadro è fondamentale dare l'antibiotico, in particolare con il metronidazolo (Flagyl).

Rappresenta la slide riassuntiva di tutti i filum che sono stati analizzati, con le classi, gli ordini, le famiglie, i geni e le specie (Mycro of organism del 2019). Una volta analizzato il tipo di filum, dobbiamo cercare nel test i possibili enterotipi. Gli enterotipi sono una sorta di classificazione del consorzio fecale in relazione alle possibili dominanze batteriche.

Questi enterotipi sono indipendenti dalla nazionalità, dal sesso e dall'età. Nell'85% delle persone sono stabili, non tendono a cambiare nel corso della vita, a meno che non si interviene con una dieta drastica che modifica l'enterotipo, o nel corso di certe malattie oppure uso di farmaci o probiotici.

Con un probiotico si può "manipolare" il microbiota cercando di trasformare un enterotipo che in quel momento è sfavorevole in un enterotipo più favorevole.



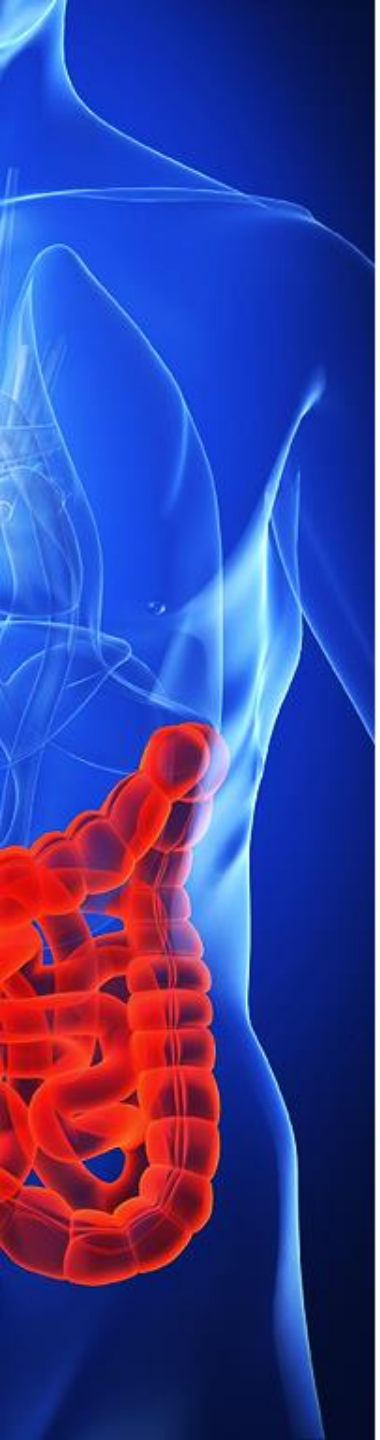
ENTEROTIPI

Gli enterotipi sono una classificazione del consorzio fecale in relazione alle possibili dominanze batteriche. Questi sono indipendenti dalla nazionalità, dal sesso, dall'età e nell'85% delle persone sono stabili, non tendono a cambiare nel corso della vita a meno che non si interviene con una dieta che va a cambiare l'enterotipo o certe malattie, oppure uso di farmaci o probiotici. Con un probiotico si può manipolare il microbiota cercando di trasformare un enterotipo che è sfavortevole in un enterotipo più favorevole.

Enterotipo 1

In questo enterotipo abbiamo l'aumento dei bacteroidetes. Questo è il più frequente ma è poco ricco in geni, cioè ha meno biodiversità. Nel nostro intestino più geni abbiamo di origine batterica e meglio è.

Questo enterotipo è tipico dei carnivori, perché i bacteroides crescono moltissimo con le proteine animali. Purtroppo è meno resistente e meno stabile. Quando si fanno delle terapie antibiotiche importanti tende a diminuire. Può essere un vantaggio nel caso in cui abbiamo valori di bacteroides altissimi, tipo 70-80% rispetto al 31% del valore normale.



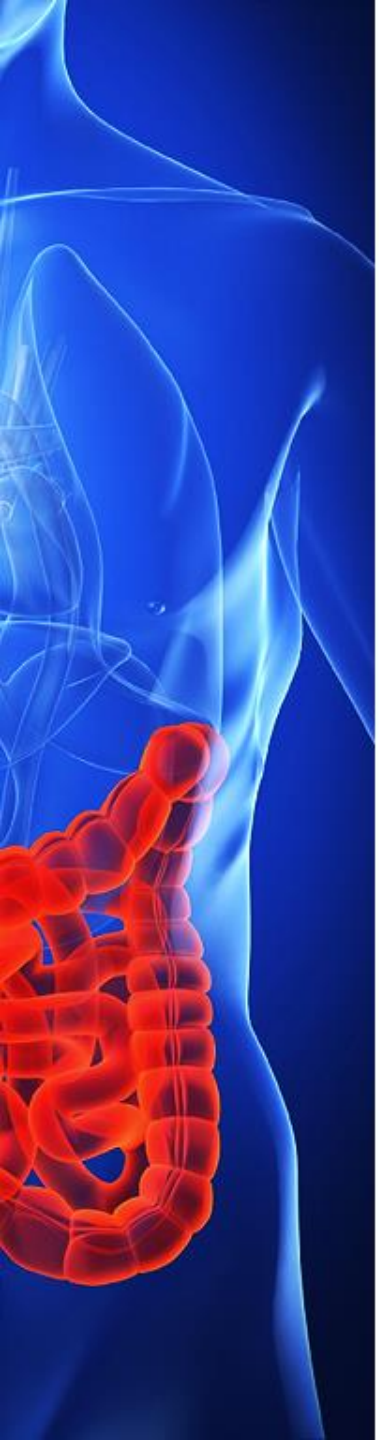
il TEST MyMicrobiota

Enterotipi

ANALISI e INTERPRETAZIONE

Enterotipo 1 – egemonia del GENERE (intestinale)
Bacteroides, Phylum Bacteroidetes

- Più frequente ma non ricco in geni (meno biodiverso).
- Batteri "carnivori": abbondante nella dieta ricca di proteine, con varietà in aminoacidi e presenza di grassi saturi. Nelle diete ricche di proteine animali crescono notevolmente *Alistipes* e *Bilophila*.
- Meno resiliente e meno stabile: la sua alta capacità di proliferazione lo rende fragile perché qualsiasi insulto lo vede perdente.



Enterotipo 2

il TEST MyMicrobiota
Enterotipi

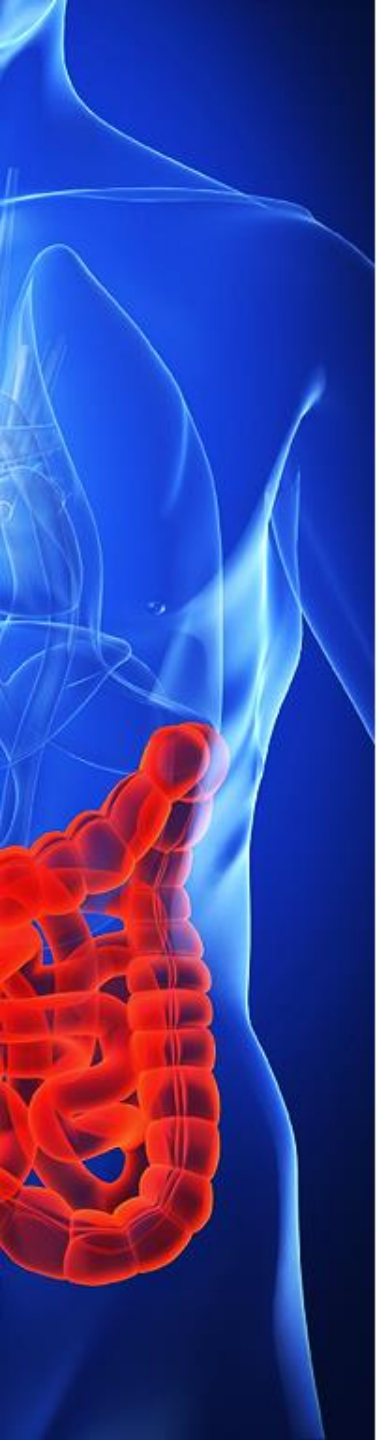
ANALISI e INTERPRETAZIONE

Enterotipo 2 - dominanza del GENERE (orale) *Prevotella*, *Phylum Bacteroidetes*

- Meno frequente del n.1 ma più ricco in geni.
- Batteri "vegetariani": abbondante nelle diete povere di proteine e grassi animali ma ricche in carboidrati vegetali. Comune negli immigrati giunti dai Paesi poveri, vegetariani e vegani.
- La sua abbondanza correla e causa ipertensione.

È quello delle Prevotella. Questa è meno frequente ma più ricco in geni ed è tipico dei batteri vegetariani. La sua abbondanza è causa di ipertensione. Nei vegetariani questo batterio è antitetico al Bacteroides. Il Bacteroides è tipico dei carnivori, mentre le Prevotelle sono tipiche dei vegetariani.

Quando si alza l'uno l'altro si abbassa e viceversa.



Enterotipo 3

L'enterotipo 3 è quello delle Ruminacoccacee, ed è un Firmicutes. È tipico delle persone che fanno la dieta mediterranea. Fanno grosso uso di cereali, di legumi, di amidi e di cellulosa.

Questo ha il vantaggio di essere più stabile e più resistente, ma ha lo svantaggio che quando è molto alto il paziente sta male.

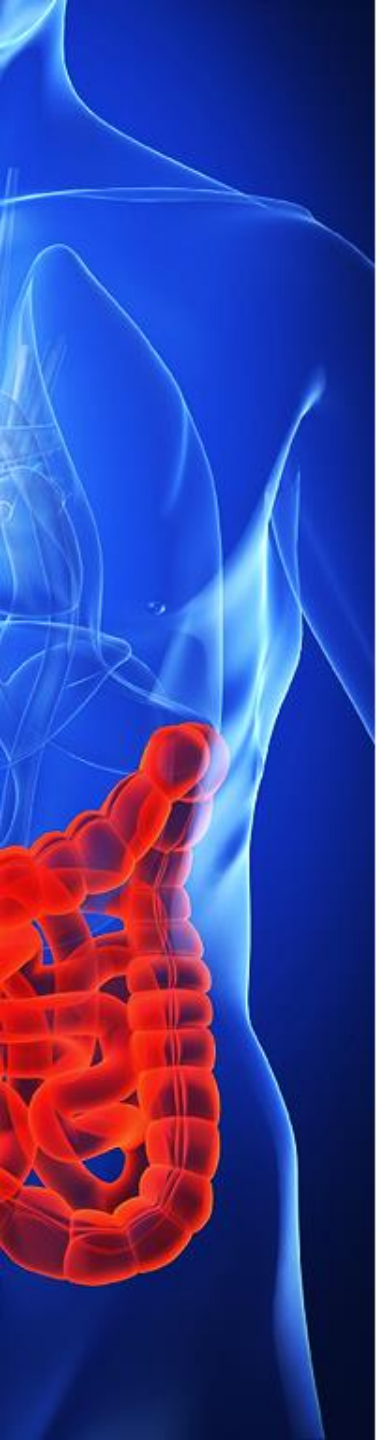
Ha la tendenza a dare forti gonfiori, stitichezza, a volte obesità. Sono pazienti che riferiscono di ingrassare solo con aria. Quando questo enterotipo è troppo elevato il paziente va trattato in maniera importante.

il TEST MyMicrobiota
Enterotipi

ANALISI e INTERPRETAZIONE

Enterotipo 3 - apparente egemonia del GENERE (orale) *Ruminococcus, Ph. Firmicutes*

- Raro
- A livello dietetico esiste un legame con l'uso di cereali, leguminose, amidi e cellulosa tipici di una dieta mediterranea
- Più resiliente e stabile. I batteri proliferano di meno e quindi è il più solido, stabile (strategia proliferativa K) e resiliente, il paziente che sopporta meglio le terapie ed è meno vulnerabile alle perturbazioni.



CONOSCERE L'ENTEROTIPO

il TEST MyMicrobiota
Enterotipi

ANALISI e INTERPRETAZIONE

La conoscenza dell'enterotipo e, quindi, del profilo glucidico, proteico o lipidico permettere di:

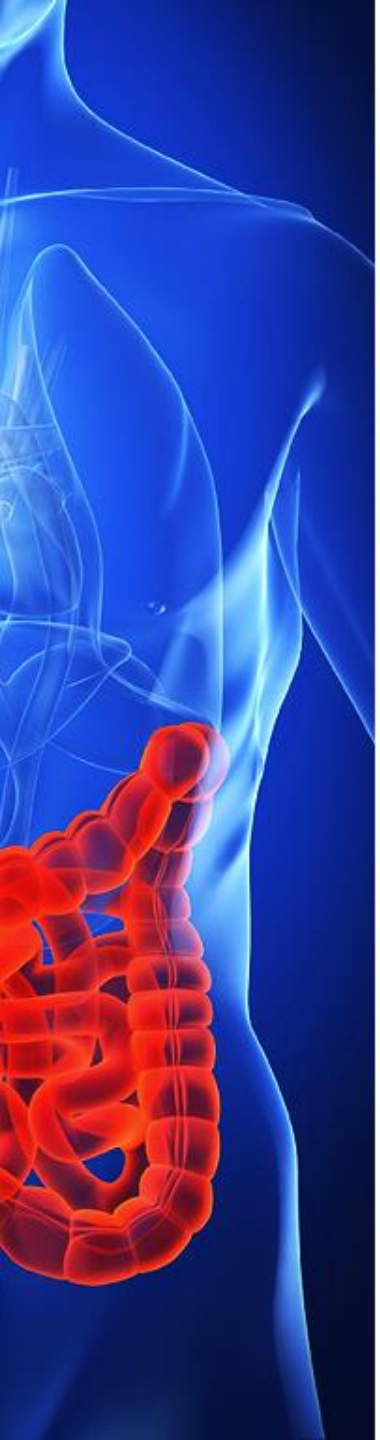
1. conoscere il tipo di regime alimentare
2. correggere aspetti nutrizionali specifici e rendere la dieta, uno dei fattori che maggiormente modellano il microbiota, il più varia e bilanciata possibile
3. rivelare l'aderenza del paziente ad una nuova dieta.

Conoscere l'enterotipo da l'idea del regime alimentare del paziente. Con l'alimentazione si può manipolare a piacimento l'enterotipo e quindi poterlo cambiare.

Si può fare la correzione dell'enterotipo tramite medicinali specifici oppure controllare se il paziente ha seguito le indicazioni dietetiche date.

Se abbiamo un paziente di tipo 3 in cui le Ruminococcacee sono molto alte bisogna abbassarle. Evitare cereali, legumi, fibre integrali, etc. e dare una dieta iperproteica che faccia crescere i Bacteroidetes. Se dopo il rifacimento del test non è cambiato nulla, è molto probabile che il paziente non abbia seguito la nuova dieta.

Vediamo a livello pratico quali armi terapeutiche abbiamo a disposizione per riequilibrare il microbiota. Importante è sapere come utilizzare al meglio e in maniera temporale queste azioni terapeutiche.



Dieta

Il MICROBIOTA INTESTINALE

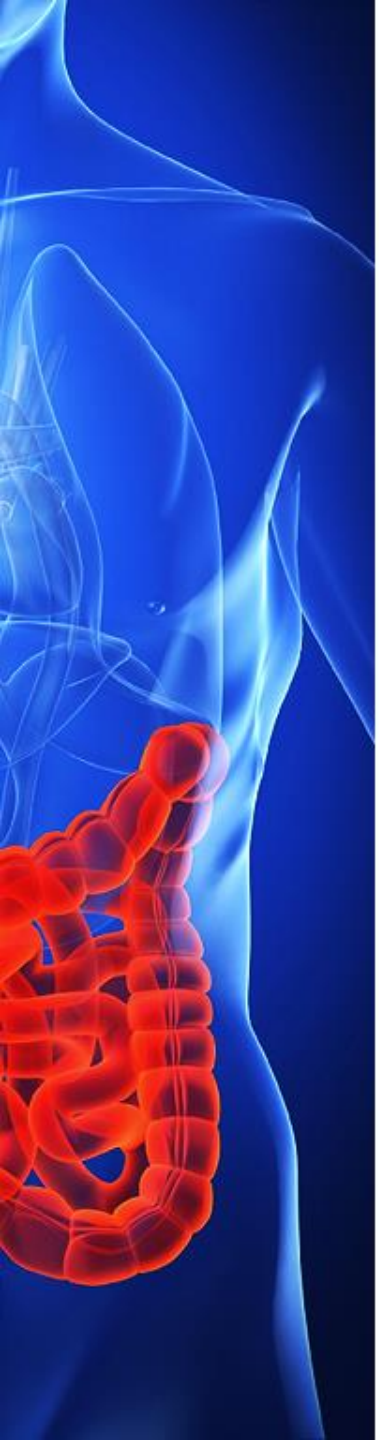
COME RIEQUILIBRARE con la DIETA

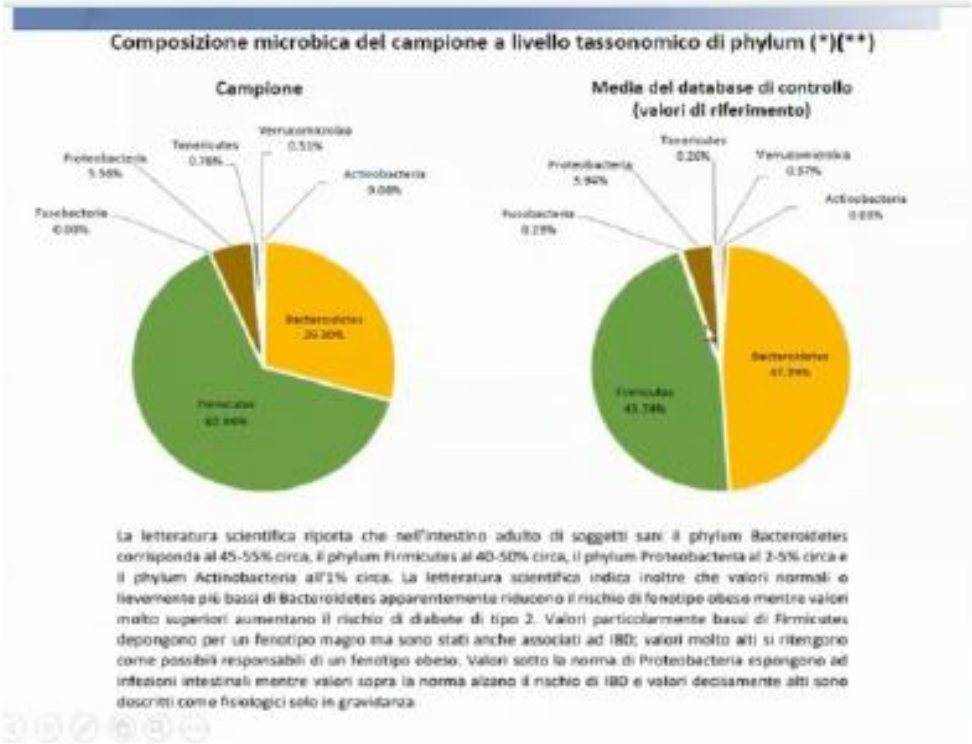
In caso di aumento molto elevato dei Firmicutes bisogna cercare di aumentare la quota dei Bacteroidetes mediante un'alimentazione che privilegi (per un periodo di tempo limitato) le proteine animali a scapito dei carboidrati e dei grassi

La prima cosa da vedere se sono aumentati i Firmicutes e/o i Bacteroidetes, soprattutto se sono valori molto elevati.

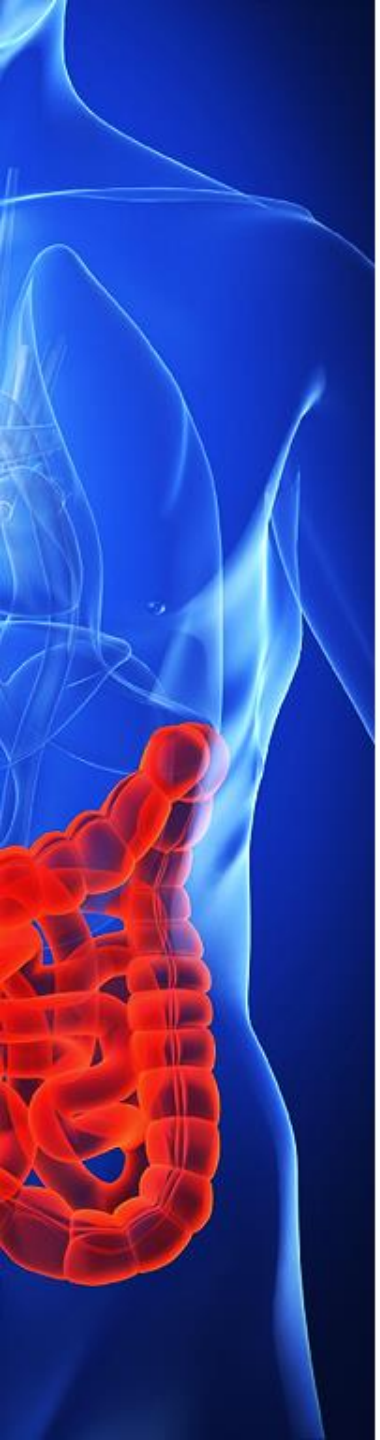
I Firmicutes hanno un valore normale 42 – 48%. Se abbiamo valori di 55 – 56%, non sono molto elevati, mentre con valori di 70 – 80% bisogna intervenire. I Firmicutes rappresentano la torta verde, se sono molto elevati, probabilmente avremo una torta gialla molto bassa. In questo caso occorre aumentare la torta gialla.

La torta gialla rappresenta i Bactertoides e le Prevotelle. Per aumentare la torta gialla bisogna dare proteine animali che fanno crescere i Bacteroides e verdure per far crescere le Prevotelle, mentre si dovranno diminuire i carboidrati e i grassi per far crescere i Firmicutes.





La slide mostra un quadro clinico dove i firmicutes sono molto aumentati. Per diminuire la torta verde bisogna aumentare la torta gialla e andare a diminuire il consumo dei carboidrati e grassi. Ovviamente bisogna valutare anche l'enterotipo.



Come riequilibrare la dieta

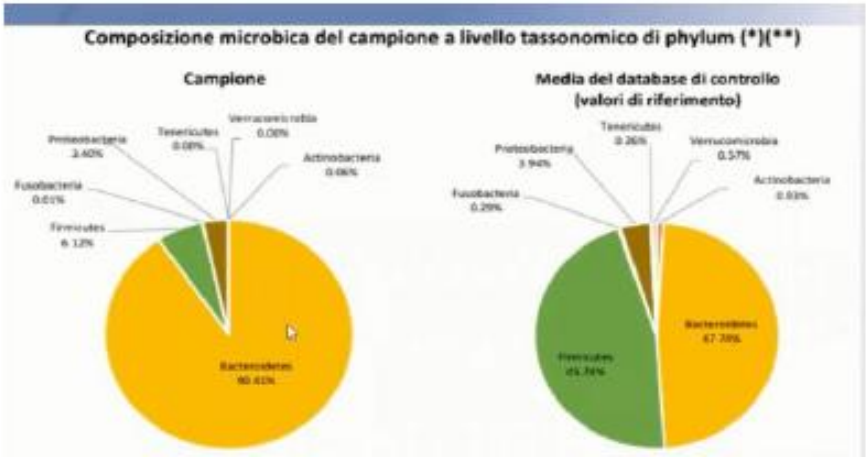
Il MICROBIOTA INTESTINALE

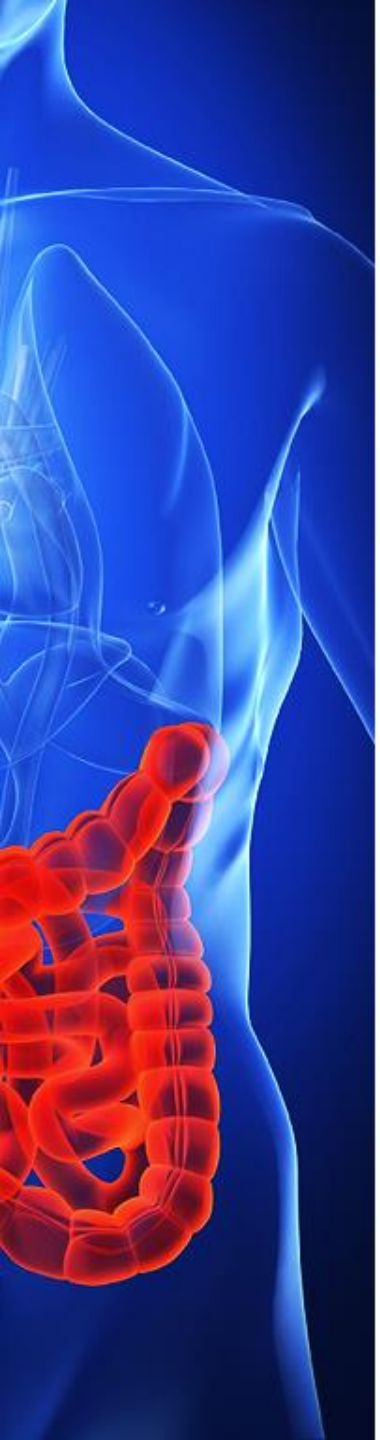
COME RIEQUILIBRARE con la DIETA

In caso di aumento molto elevato dei Bacteroidetes bisogna in ordine temporale

1. cercare di aumentare la torta dei Firmicutes mediante un alimentazione che privilegi (per un periodo di tempo limitato) i carboidrati a basso indice glicemico e i grassi a scapito delle proteine animale
2. vedere se l'aumento dei Bacteroidetes è legato ad un eccesso di Prevotelle (crescono con le verdure) o di Bacteroides (crescono con proteine animali)

Viceversa quando i Bacteroidetes sono molto aumentati dobbiamo fare il contrario. Si deve cercare di aumentare la torta dei Firmicutes dando carboidrati a basso indice glicemico e grassi principalmente polinsaturi e mono insaturi, a scapito di proteine animali e verdure. L'aumento dei Bacteriodetes e delle Prevotelle, fetta gialla, è dovuto ad una alimentazione con verdure (Prevotelle) e con proteine animali (Bacteroidetes).





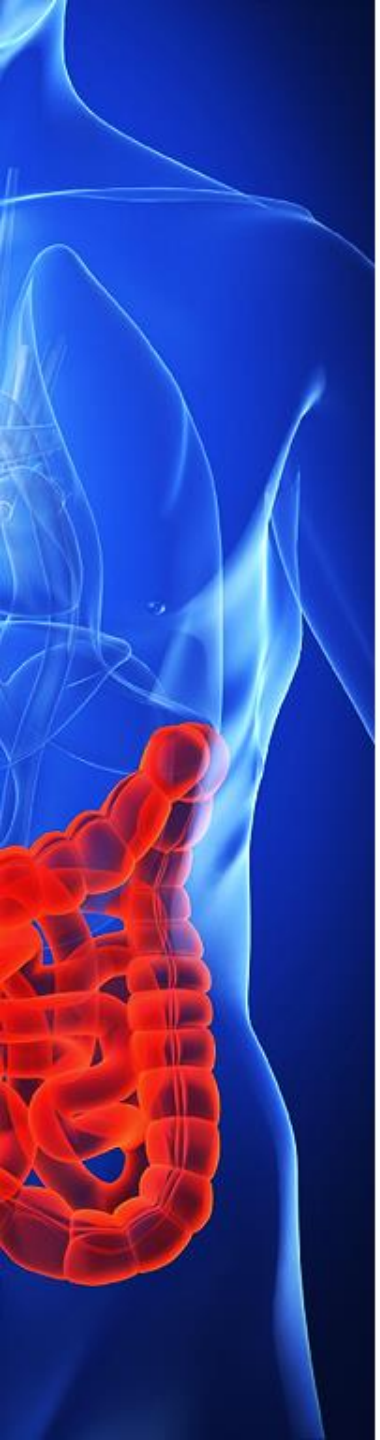
Quando si ha un quadro clinico come riportato nella slide, la prima cosa da fare a livello nutrizionale è aumentare la quota verde. Aumentare il quantitativo di carboidrati a basso indice glicemico e grassi omega 3 e polinsaturi, quindi una azione antinfiammatoria.
Un quadro del genere con un aumento dei Bacteroides Gram – indica che il paziente ha una gram negatività elevatissima che comporta un aumento delle Lts, quindi maggiore tendenza all'infiammazione epatica e insulino resistenza, pertanto paziente a rischio di diabete di tipo 2.

Adesso occorre capire se questo aumento della torta gialla è dovuto ad un aumento dei Bacteroides oppure delle Prevotelle.

La dominanza *Bacteroides* segnala un enterotipo 1, la dominanza *Prevotella* segnala un enterotipo 2 e la dominanza *Ruminococcus* segnala un enterotipo 3 (Arumugam et al., 2011, Nature).

Possiamo avere un quadro come riportato nella slide. In questo caso le proteine animali dovrebbero essere ridotte al massimo.

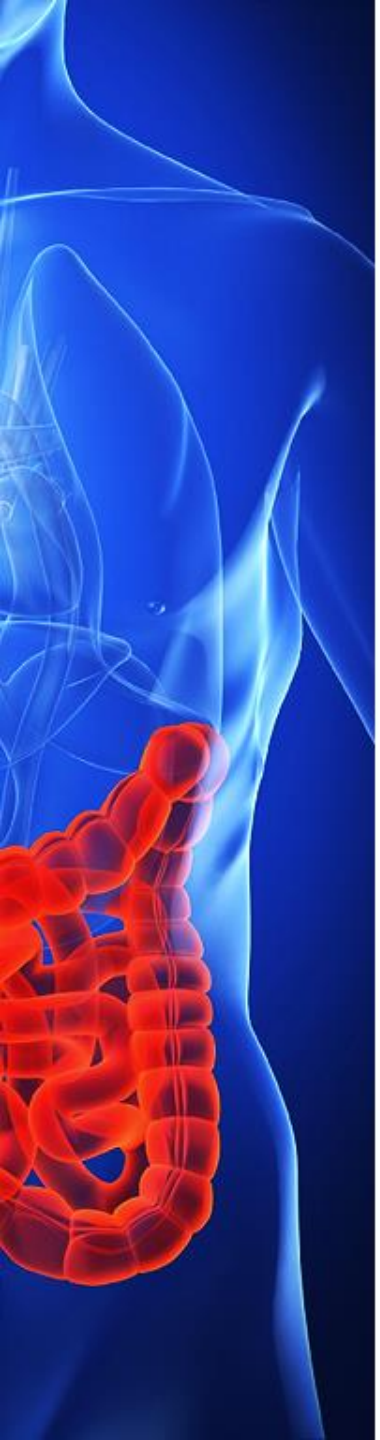
Lts = Lipotossine



Oppure possiamo avere un quadro come riportato nella slide. In questo caso occorre diminurie in maniera drastica il consumo di verdure crude.

Attività Fisica

L'attività fisica è fondamentale. Deve essere una attività moderata perché una attività eccessiva o fatta male può creare una serie di problematiche. Si può creare una acidificazione generale dell'organismo e questa acidificazione può far crescere dei batteri, soprattutto batteri fermentatori.



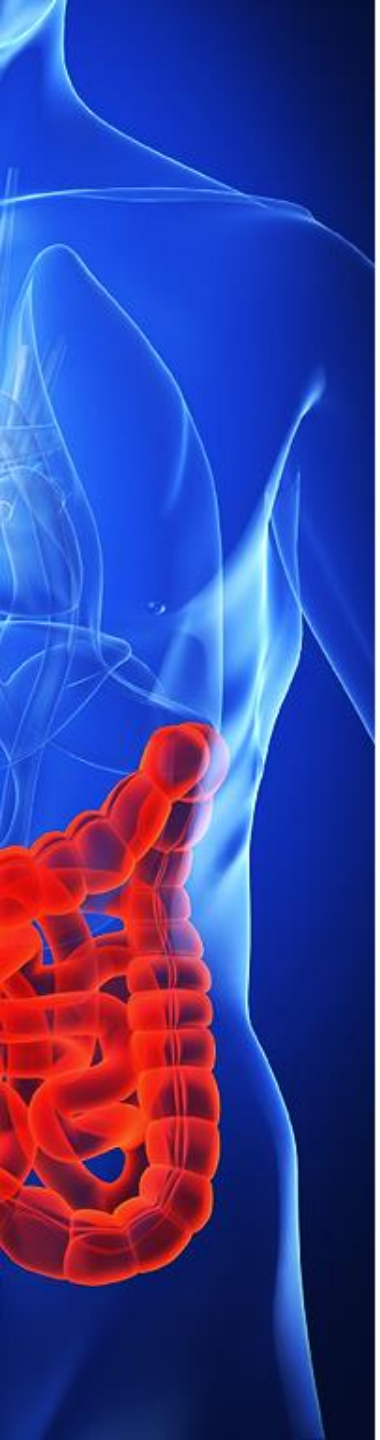
Pre e Probiotici

I prebiotici sono delle sostanze organiche non digeribili che hanno la funzione di stimolare selettivamente la crescita e l'attività di uno o un numero limitato di batteri benefici dell'organismo.

I probiotici sono microorganismi vivi e vitali che se somministrati in quantità adeguata apportano un beneficio alla salute dell'ospite.

Prebiotici → sostanze organiche non digeribili, capaci di stimolare selettivamente la crescita e/o l'attività di uno o di un numero limitato di batteri benefici

Probiotici → Microorganismi vivi e vitali che, somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell'ospite



Tra i batteri benefici che dobbiamo far crescere in primis sono i Bifidobatteri.

Bifidobatteri

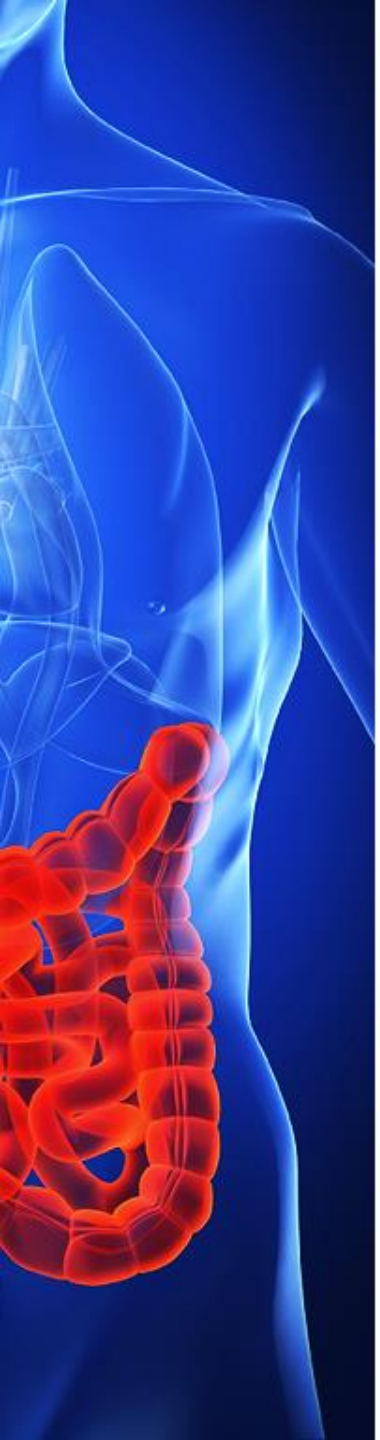
come far crescere i BIFIDOBATTERI

Crescono molto con il latte materno che contiene HMO (Human Milk Oligosacchaarides)

HMO → Comprendono un'ampia famiglia di oligosaccaridi estremamente eterogenei e presenti in elevate concentrazioni nel latte materno.

Nel latte umano sono stati identificati circa 200 HMO di cui il più abbondante è il 2-fucosil-lattosio

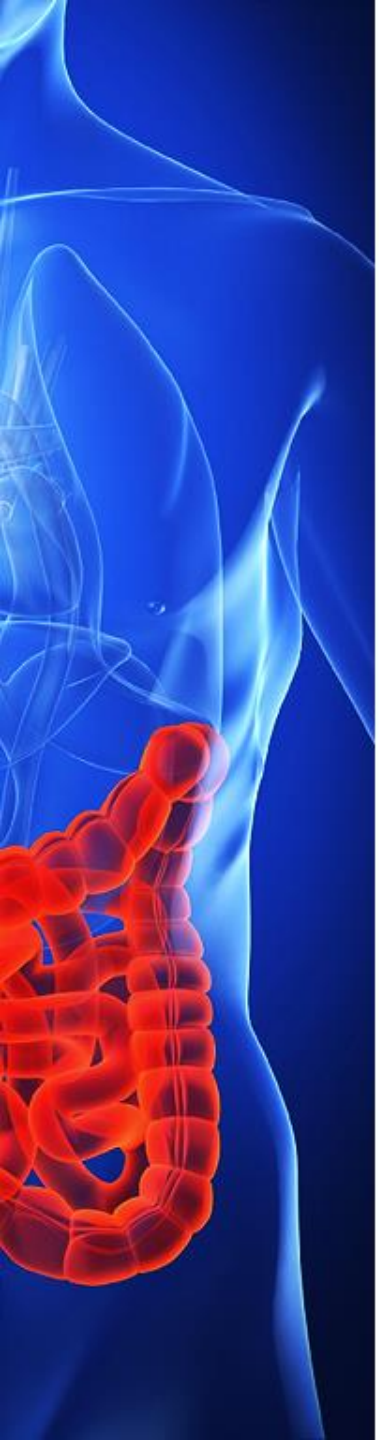
Rappresentano il terzo componente solido del latte materno in termini di abbondanza, dopo lattosio (70 g/l) e grassi (30-60 g/l)

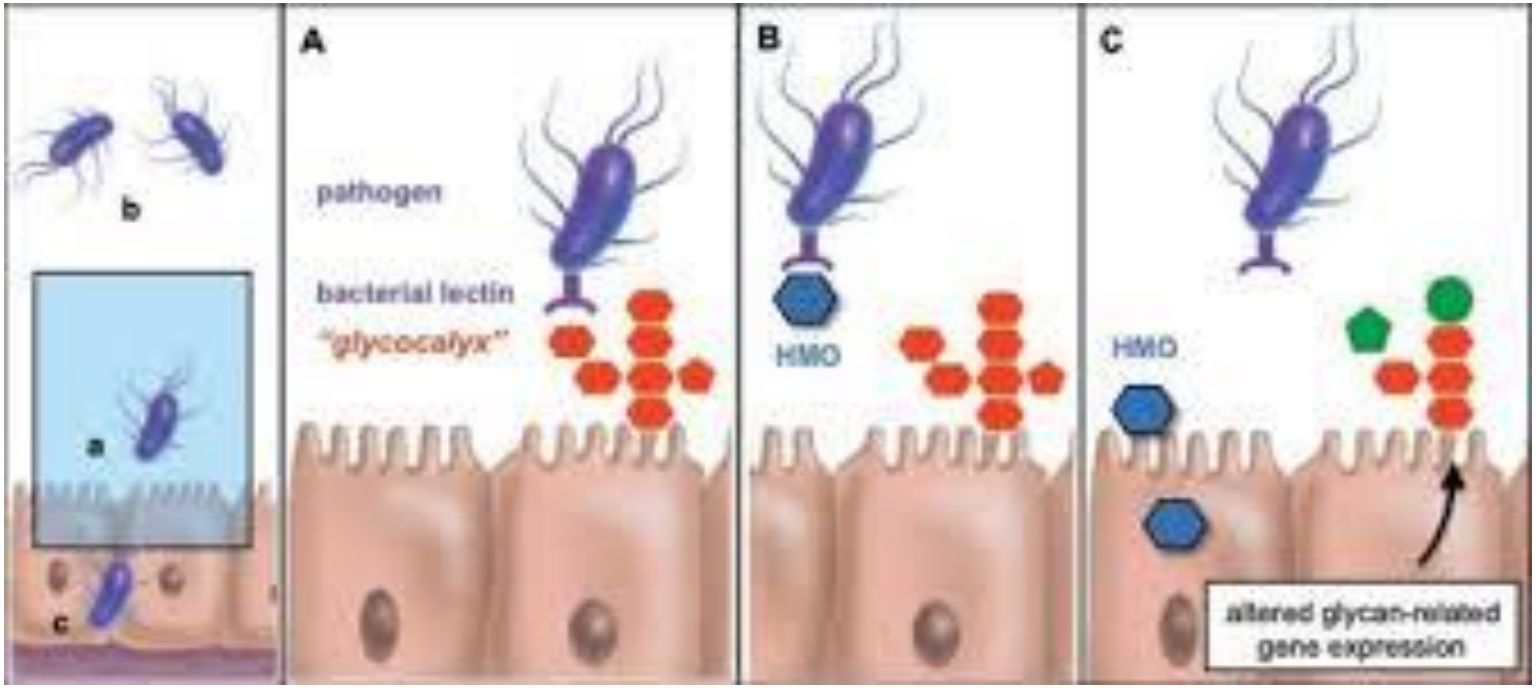


I Bifidibatteri sono fondamentali nei bambini in età pediatrica. Crescono moltissimo con il latte materno che contiene l'HMO (Human Milk Oligosaccarides). Sono una serie di oligosaccaridi, addirittura 200 tipi di HMO, di cui il più importante è il 2-Fucosil-Lattosio, che da solo rappresenta un terzo del componente solido del latte materno. Non solo fa crescere i Bifidi, in particolar modo il Bifidobacterium Bifidum, ma ha anche la funzione di impedire l'attacco alle cellule epiteliali del tratto gastrointestinale di sostanze tossiche, ma anche di batteri patogeni.

Tra i batteri patogeni abbiamo l'E.Coli, il Vibrio Cholerae, la Salmonella, l'Helicobacter Pylori, oppure tossine batteriche (Entamoeba Histolytuca) e virus. In questo modo si va a tamponare il primum movens di tutti i processi infettivi.

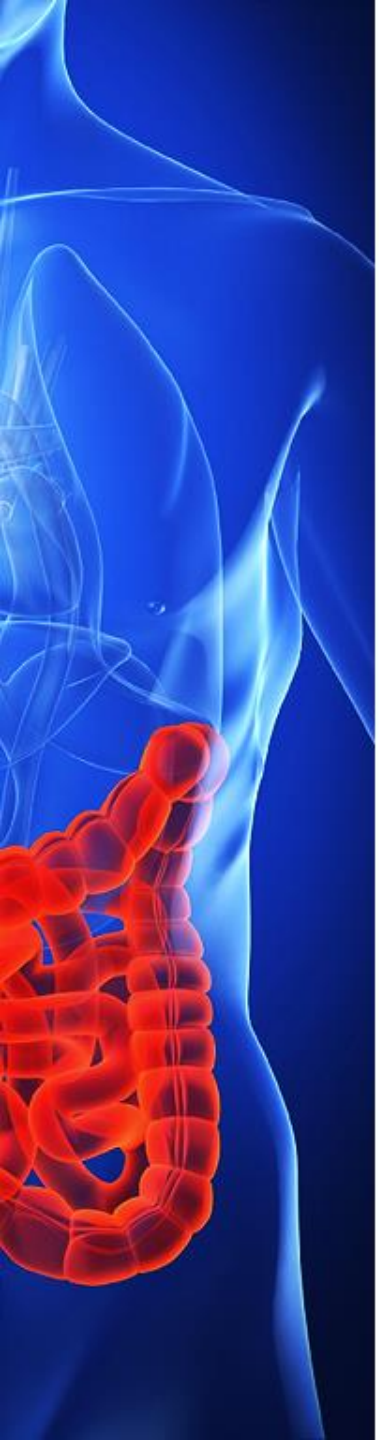
Un batterio, per essere patogeno, non deve solamente produrre tossine o creare citotossicità, ma la prima cosa che deve fare, deve poter aderire alle cellule del corpo, in questo caso alle cellule intestinali. Se si impedisce l'attaccamento non si avrà patologia.





Fondamentalmente l'HMO fa questo. Nella slide vediamo un batterio che vuole legarsi alla cellula. L'HMO evita che si leghi ai recettori cellulari e quindi evitando l'attaccamento alle cellule non si svilupperà una patologia.

Gli HMO crescono tantissimi con il latte materno mentre decrescono con il latte artificiale. I bambini allattati artificialmente tendono ad avere i bifidobatteri molto bassi se non addirittura azzerati.



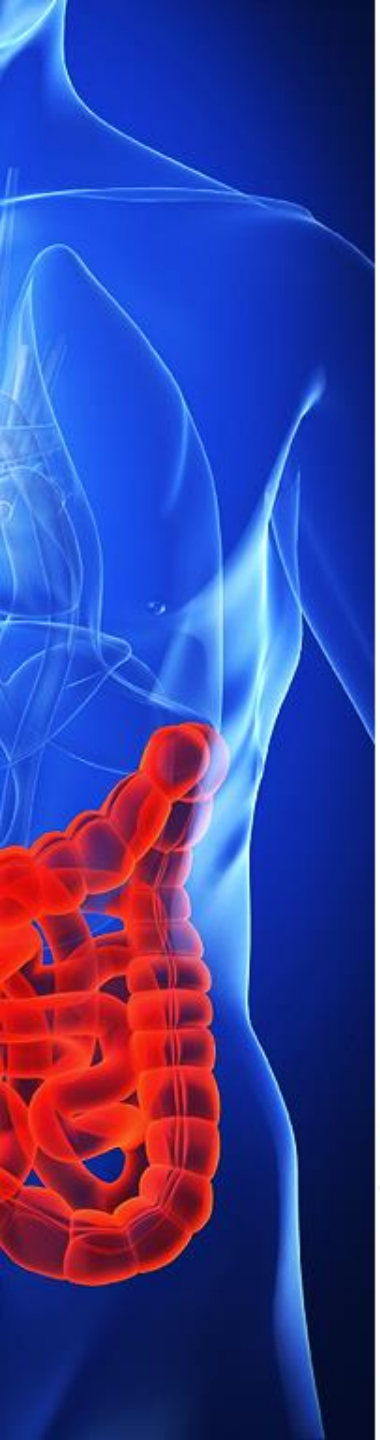
Gli HMO sono resistenti all'idrolisi degli enzimi intestinali e raggiungono il colon, dove agiscono come prebiotici.

In tale distretto anatomico possono promuovere la crescita di bifidobatteri, le specie predominanti nel microbiota dei neonati allattati al seno, con conseguente produzione di metaboliti microbici caratteristici della fermentazione dei carboidrati.

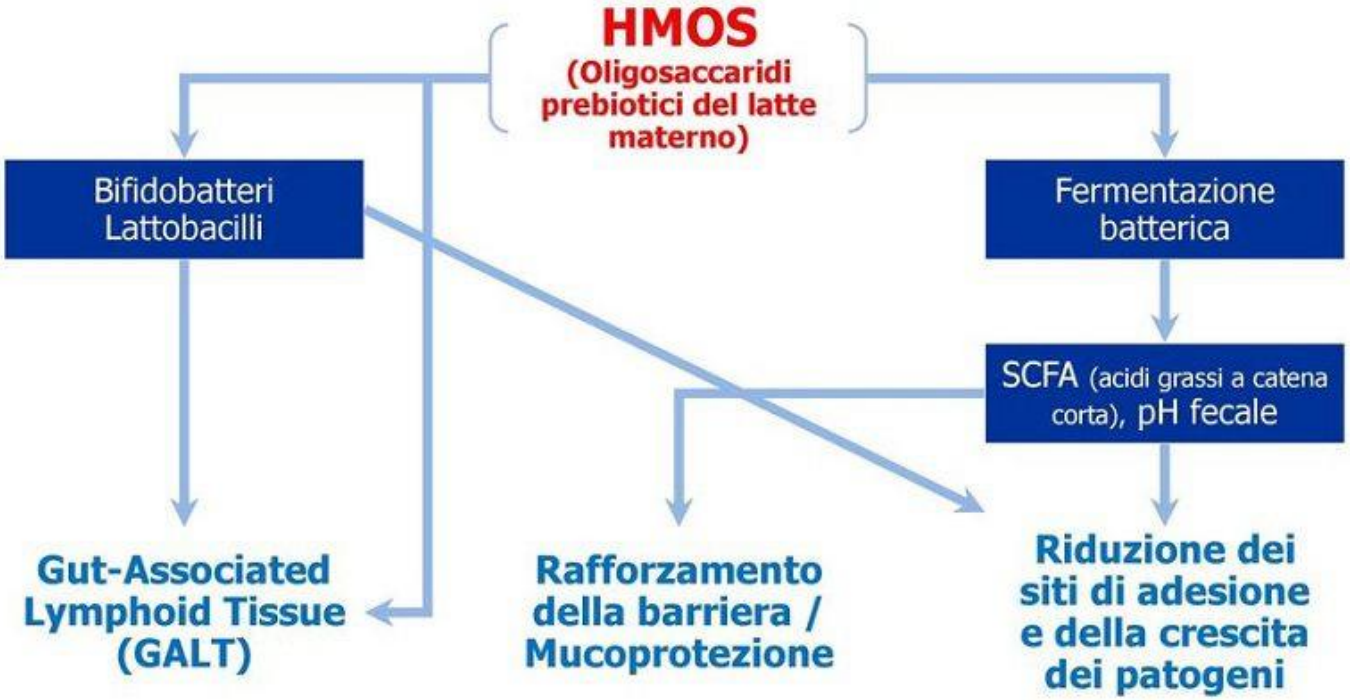
Circa l'1% degli HMO ingeriti viene assorbito nella circolazione sistemica del bambino e viene escreto nelle urine, dove può anche contribuire all'attività anti-patogena, mentre la maggior parte viene metabolizzata dal microbiota intestinale o escreta intatta nelle feci dei neonati.

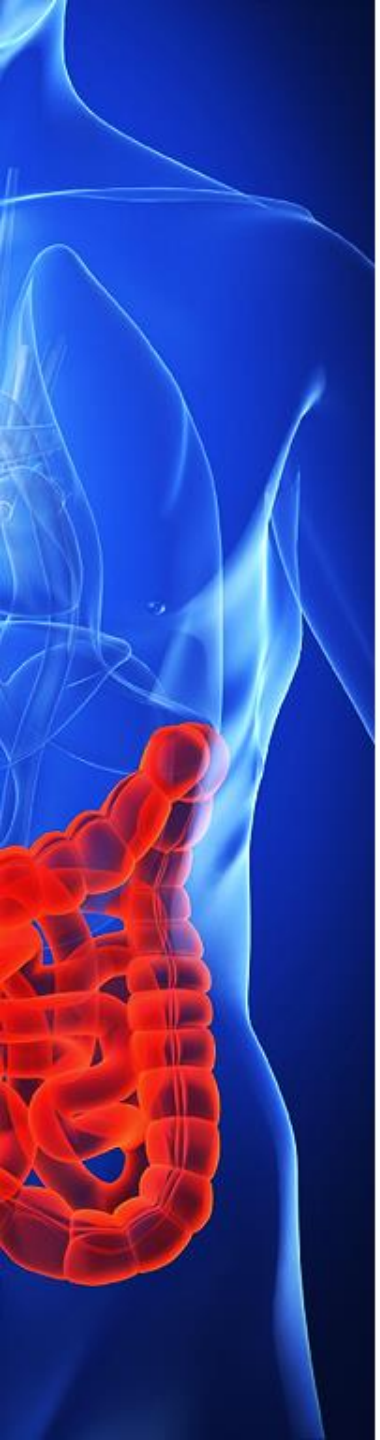
Inoltre, gli HMO assomigliano alla struttura di alcuni glicani della superficie delle cellule epiteliali dell'ospite e possono quindi fungere da "*recettori esca*" in grado di impedire l'adesione del patogeno alle superfici epiteliali e la successiva traslocazione.

Sappiamo, inoltre, che gli HMO migliorano la difesa dell'ospite modulando l'immunità e promuovendo la funzione di barriera intestinale.



Ruolo degli oligosaccaridi del latte materno (HMOS)



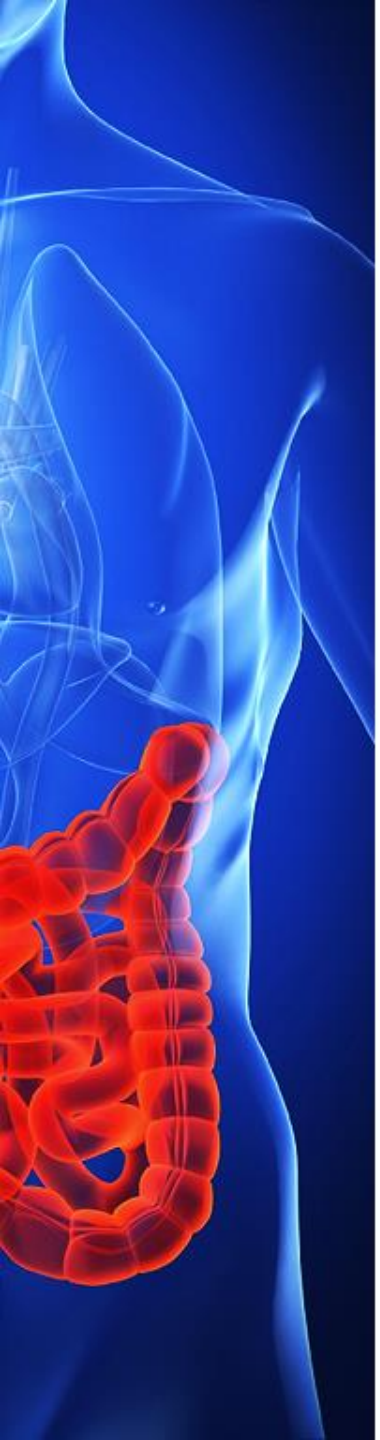


L'HMO più abbondante nel latte materno, è il **2′-fucosil-lattosio** che favorisce selettivamente la crescita dei bifidobatteri, principalmente *Bifidobacterium longum ssp. infantis* e *Bifidobacterium bifidum*, ma stimola anche la crescita di alcune specie di *Bacteroides*.

La concentrazione di 2′-fucosil-lattosio è massima all'inizio della lattazione durante il primo mese dopo il parto e di recente, questo HMO è stato sintetizzato ed è ora disponibile in alcune formule commerciali per neonati.

Le esperienze cliniche di alimentazione di latte in polvere per bambini integrato con HMO hanno dimostrato che l'aggiunta è sicura, ben tollerata, assorbita ed escreta con un'efficienza simile a quello presente nel latte materno.

Inoltre, i bambini nutriti con formula supplementata presentavano benefici immunitari, un minor numero di infezioni respiratorie riportate dai genitori e un miglioramento dei sintomi di intolleranza alla formula, dimostrando di essere più vicina dal punto di vista compositivo e funzionale al latte materno.



I bifidobatteri svolgono un ruolo importante nella colonizzazione iniziale del piccolo intestino vergine.

Attraverso la loro crescita riducono lo spazio ed il cibo a disposizione per altri batteri sgradevoli. Mentre il metabolismo umano non può fare molto con i polisaccaridi, alcuni bifidobatteri hanno sviluppato un'intera batteria di glicosidasi con cui scindere le catene di zuccheri e riuscire addirittura ad utilizzarli come unica fonte di carboidrati.

Le catene di zuccheri fungono non solo da materiale di combustione, ma anche come ancoraggio all'epitelio intestinale, da cui sporgono.

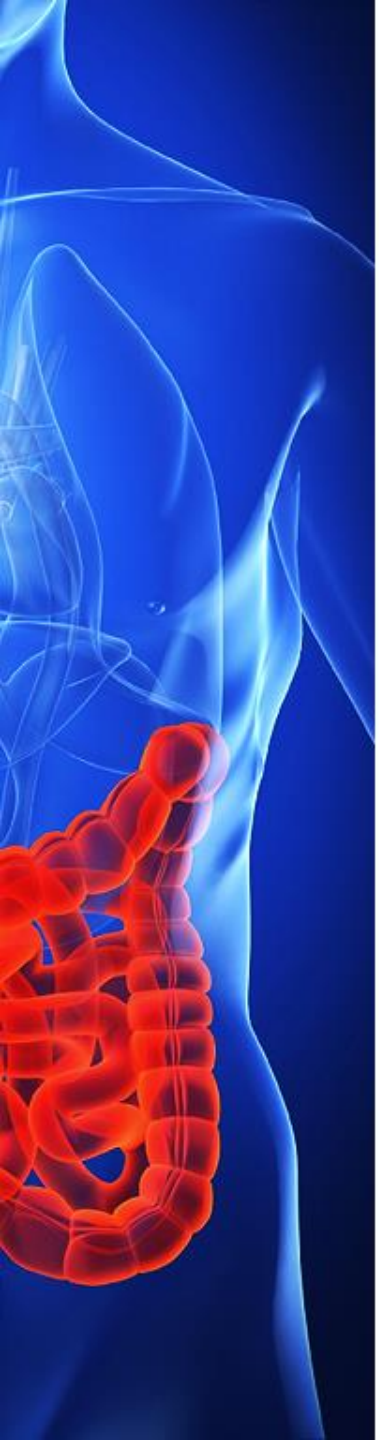
Alcuni ceppi di ***Escherichia coli***, o anche gli ***Helicobacter*** vi si ancorano volentieri.

I glicani insieme a residui del fucosio inibiscono l'attacco del patogeno ***Campylobacter jejuni*** responsabile di forme diarroiche.

Come avviene anche con altri batteri, gli zuccheri del latte li ingannano fornendo prima loro l'ancora necessaria, migrando però in seguito verso l'ano. Anche le tossine batteriche basate su lectina si legano ai glicani, e possono causare danni considerevoli.

Gli HMO sono in grado di intercettarli.

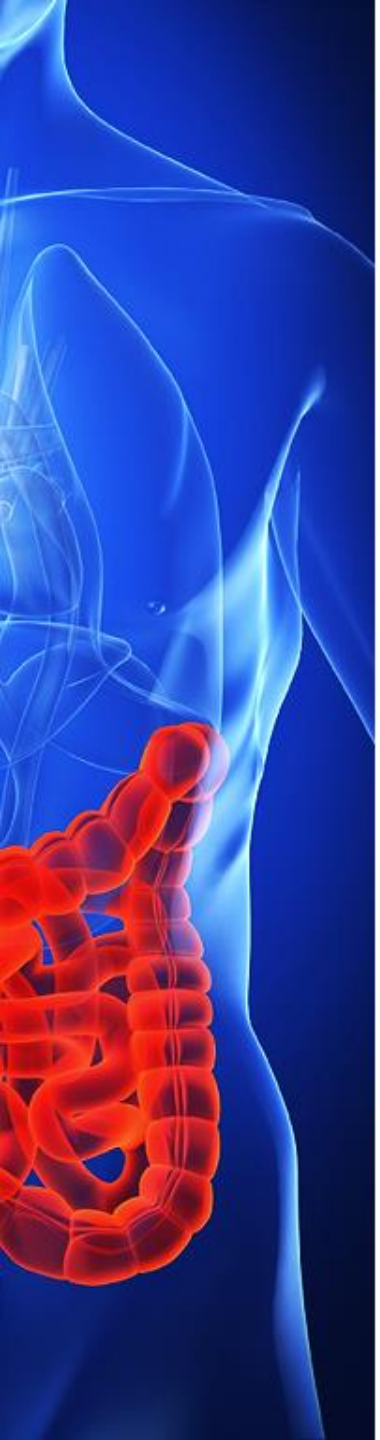
I bambini allattati al seno soffrono in misura leggermente inferiore d'infezioni respiratorie o all'orecchio.



Bifidobatteri:

- Batteri Gram-positivi di enorme importanza nell'economia del nostro intestino perché, come abbiamo già detto, sono i primi a colonizzare l'apparato digerente del neonato. Sono anaerobi, producono vitamine e aminoacidi. Producono primariamente ac. Acetico che blocca la crescita dei Gram – (per esempio E. coli) e dei Clostridi (il genere Clostridium comprende bacilli anaerobi obbligati, Gram +, in grado di formare spore se le condizioni ambientali sono avverse**).** Le altre attività comprendono:
- **Riducono la flora gassogena a livello del tenue**
- **Facilitano l'assorbimento di colesterolo e grassi saturi a livello enterico**
- **Riducono le intolleranze alimentari**
- **Metabolizzano molti farmaci (di sintesi e naturali)**

- **Si riducono in corso di:**
- Stress prolungato
- Gravi intossicazioni, terapie antibiotiche continue specie in età pediatrica responsabili di reinfezioni continue e pericolose!
- Malattie debilitanti
- Vecchiaia (utile la loro integrazione nei bambini e negli anziani)



Il secondo batterio più importante che bisogna far crescere è il Faecalisbacterium Prausnitzy. Ha una azione potentissima antinfiammatoria multilattoproduttore e mantiene le cellule intestinali unite.

come far crescere Fecalibacterium prausnitzy

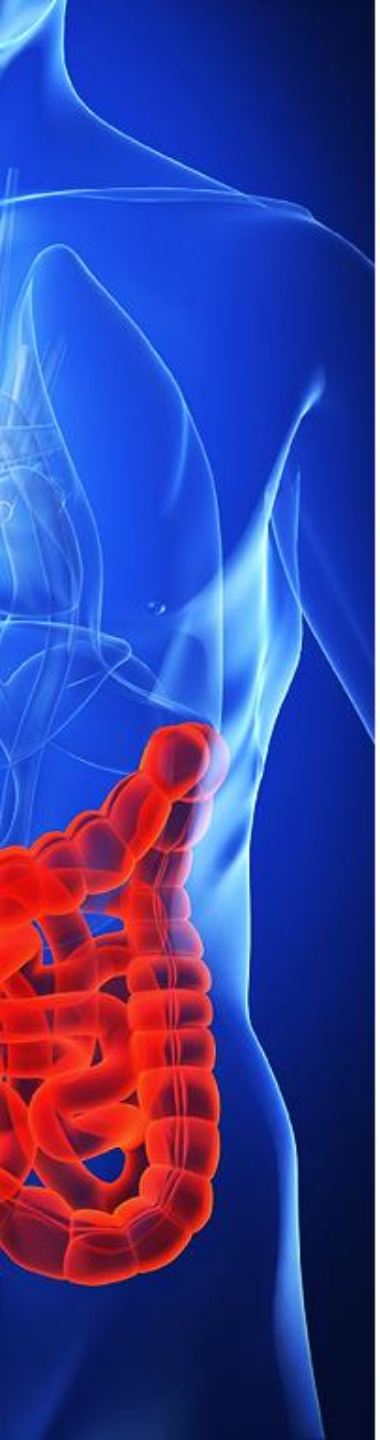
- CURCUMINA -
- QUASSIA AMARA –
- JUGLANS REGIA –

Akkermansia Muciniphila

come far crescere Akkermansia muciniphila

- BERBERINA –
- METFORMINA
- QUASSIA AMARA –
- JUGLANS REGIA –
- DIGIUNO
- ALIMENTI FERMENTATI (Kefir, sottaceti, gorgonzola, crauti, cetriolini, miso, natto)

Altro batterio che bisogna far crescere è l'Akkermansia Municiphila. Questo batterio si può far crescere con la berberina , con la metformina, con la Quassia amara , con la Juglans Regia con il digiuno e con alimenti fermentati (kefi, sottoaceti, gorgonzola, crauti, cetrolini, miso, natto).
Questo è importante quando troviamo l'Akkermansia a zero o molto bassa e una curva di rarefazione molto bassa. Sono pazienti che tendono avere diarree. Gli alimenti fermentati contenendo batteri vanno ad alzare la curva di rarefazione.



Dorea

come far crescere Dorea

Aumenta con lo Zingiber (Zenzero) –

È un batterio fondamentale perché tanto più è basso tanto più il paziente è a rischio di steatosi, mentre tanto più è alto tanto più è epatoprotettivo. Cresce moltissimo con lo zenzero

Ora riportiamo quali sono i batteri benefici che alzano e quelli cattivi che abbassano. Nel momento in cui arriverà il test, vedendo i batteri alterati in senso negativo, cioè quelli che sono troppo bassi, possiamo pensare quale probiotico si può utilizzare.

BIFIDOBACTERIUM LONGUM ES1
quando è utile a livello pratico?

- Quando bisogna aumentare i livelli di AKKERMANSIA MUCINIPHILA e/o DOREA e/o BIFIDOBATTERI
- Quando bisogna diminuire i livelli di PREVOTELLE e/o FECALIBACTERIUM e/o ROSEBURIA e/o LACHNOSPIRA e/o DESULFOVIBRIO

si utilizza quando si vuole aumentare il livelli di Akkermansia, della Dorea e dei Bifidobatteri e contemporaneamente diminuire i livelli di Prevotella e Prevotellacee e dei Faecalisbacterium, i quali possono aumentare anche del 30 – 40%, di Roseburia e Lachnospira. I Roseburia e Lachnospirai fanno parte di una triade fermentativa insieme ai Faecalisbacterium e il Disulfovibrio, il quale è un batterio che quando la Prevotella è alta può creare ulcerazioni alle mucose.

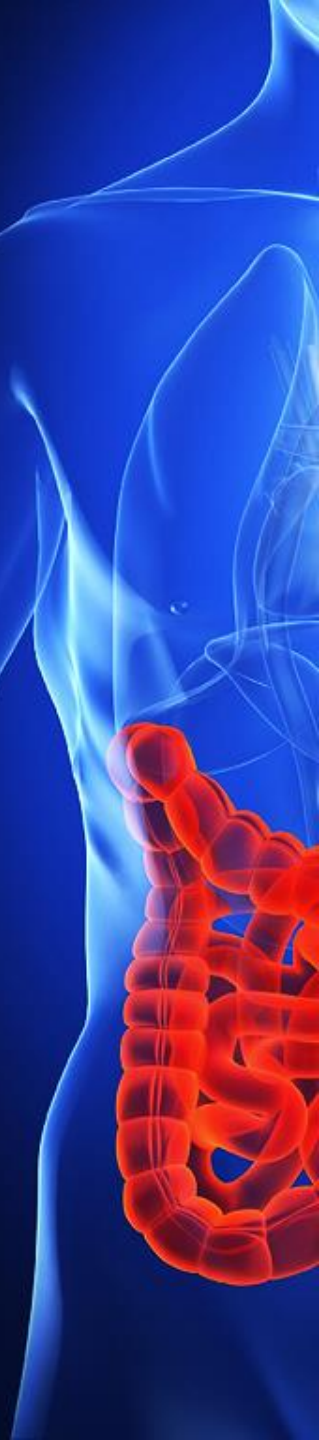
Nel corso dell'ultimo decennio le alfa-lattoalbumine hanno acquistato grande interesse da parte del mondo scientifico per alcune loro peculiarità terapeutiche che le hanno viste essere praticamente risolutive in una vasta gamma di patologie dalla netta impronta neurologica e non. Sto parlando nello specifico di:

- **Cefalea periodica in età pediatrica**
- **Epilessia (in età pediatrica e non)**
- **Fibromialgia**
- **Disturbi del sonno**
- **Autismo**
- **Ansia e depressione**
- **Tumori**

Perché ha riscosso così tanto interesse? La risposta ce la danno le pubblicazioni scientifiche in merito ai suoi benefici effetti riscontrati nei confronti delle patologie sopraesposte.

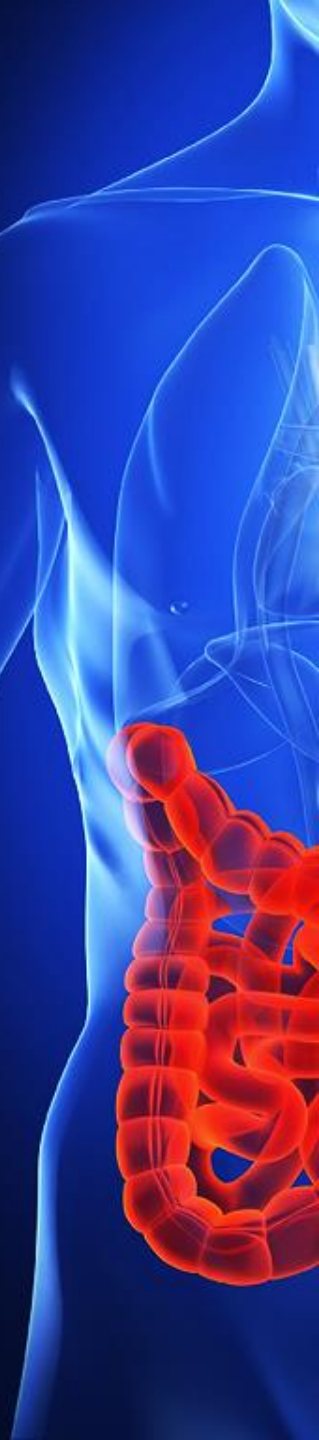
In particolare, il suo ruolo primario si evidenzia già alla nascita in cui, il colostro materno (rappresenta il 40% delle proteine totali del latte), molto ricco in lattoalbumina, è la fonte fondamentale se non necessaria per consentire il normale sviluppo cerebrale del neonato e per mettere in moto il suo intestino.

Quello che apporta questo effetto benefico nel nascituro è l'abbondante presenza, nella lattoalbumina, di un aminoacido fondamentale: **il triptofano.**



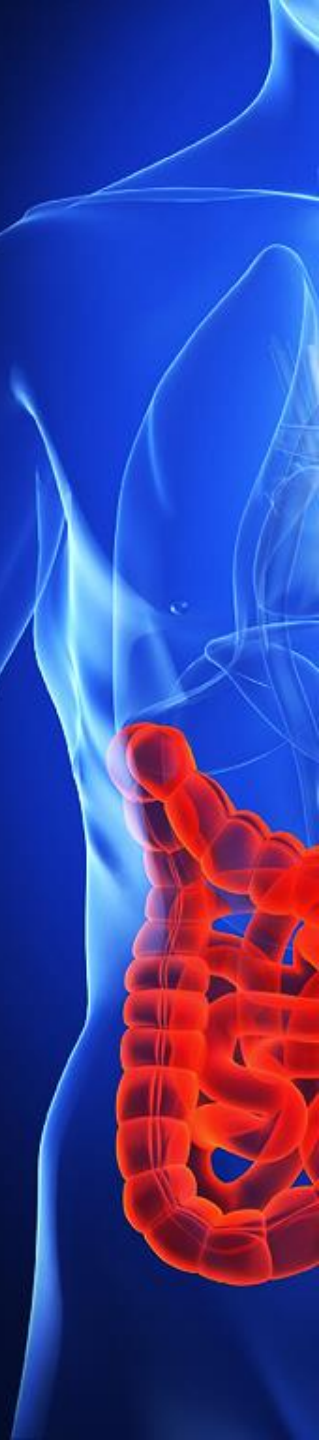
Il triptofano, dal canto suo, è il principale precursore della **serotonina** (5-OH triptamina), Lo sviluppo cerebrale infatti dipende dalla disponibilità di serotonina cerebrale. Un recentissimo studio su animali, dimostra che ripetute assunzioni orali giornaliere di alfa-lattoalbumina sono in grado di aumentare la sintesi cerebrale di serotonina; agendo, quindi, in modo assolutamente naturale e senza alcun effetto collaterale. Molte sintomatologie neurologiche sono dovute a deficit di serotonina cerebrale. La più nota è la depressione, in cui il deficit di serotonina fu ipotizzato già dal 1965, mediante la valutazione dei livelli urinari dei suoi cataboliti. Dal 1970 la terapia farmacologica della depressione si basa sul potenziamento della serotonina cerebrale attraverso l'utilizzo di farmaci che aumentano la sua biodisponibilità attraverso il blocco dei suoi recettori (inibitori selettivi della ricaptazione della 5-OH triptamina). Il deficit di serotonina cerebrale è stato riportato come fattore determinante nel peggioramento di sintomi come:

- **Aggressività**
- **Nervosismo**
- **Affaticamento**
- **Depressione del tono dell'umore, ansia**
- **Insonnia, Cefalee**
- **Dolore cronico**



Prebiotico intestinale, nel latte materno è responsabile dell'attivazione dei processi assorbitivi/difensivi intestinali, tramite il controllo della flora batterica, e della **riduzione della permeabilità intestinale**, che risulta essere massima al momento della nascita. Mediante queste sue azioni intestinali permette l'arrivo al cervello di importanti neurotrasmettitori e di neuropeptidi che modulano lo sviluppo cerebrale del neonato. Dalla sua demolizione enzimatica sono stati individuati 4 peptidi con azione antibatterica intestinale, stimola la secrezione di muco locale attraverso l'aumento e il rilascio di prostaglandine (PGE-2), e controlla inoltre il pH dell'intestino. **La flora intestinale è sensibile a variazioni di decimi di unità di pH, pertanto è di vitale importanza che tale valore si modifichi il meno possibile ai fini di una corretta integrità del microbiota** (il 60% del microbiota intestinale si modifica nell'arco delle 24 ore). Da più parti del mondo scientifico arrivano ormai continue segnalazioni in merito che confermerebbero sempre di più che *assunzioni orali di alfa-lattoalbumina sono in grado di aumentare la sintesi cerebrale di serotonina*.

Si comprende pertanto come, l'integrazione mirata con i suddetti costituenti (pectina, alfa-lattoalbumina, prebiotici, etc.) sia in grado di modulare e ristabilire positivamente una condizione di squilibrio dietetico (per esempio, il glutine, nello specifico) che nel tempo potrebbe essere causa di grave disbiosi con tutte le conseguenze ad essa correlate.



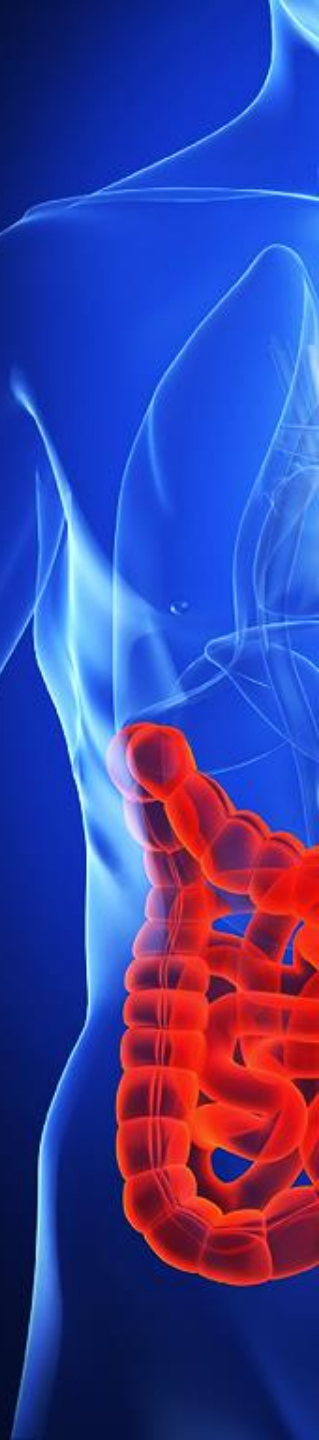
Il sistema immunitario della mucosa sembra essere coinvolto inoltre in un conflitto irrisolvibile. Da un lato deve tollerare le attività del microbiota, le quali potrebbero indurre eccessive modificazioni della risposta immunitaria, dall'altro deve controllare lo stesso microbiota per prevenire indesiderati fenomeni di accrescimento e traslocazione ai siti sistemici.

I batteri, come le varie specie di lattobacilli, a differenza degli effetti pan-sistemici del Bacteroides fragilis, hanno dimostrato di possedere attività di modulazione dell'immunità. Essi si sono dimostrati in grado di influenzare il bilancio delle citochine Th (tipo 1, 2, 3) nella mucosa intestinale (Christensen et al. 2002) e di attivare le cellule NK (Natural Killer) (Fink et al. 2007).

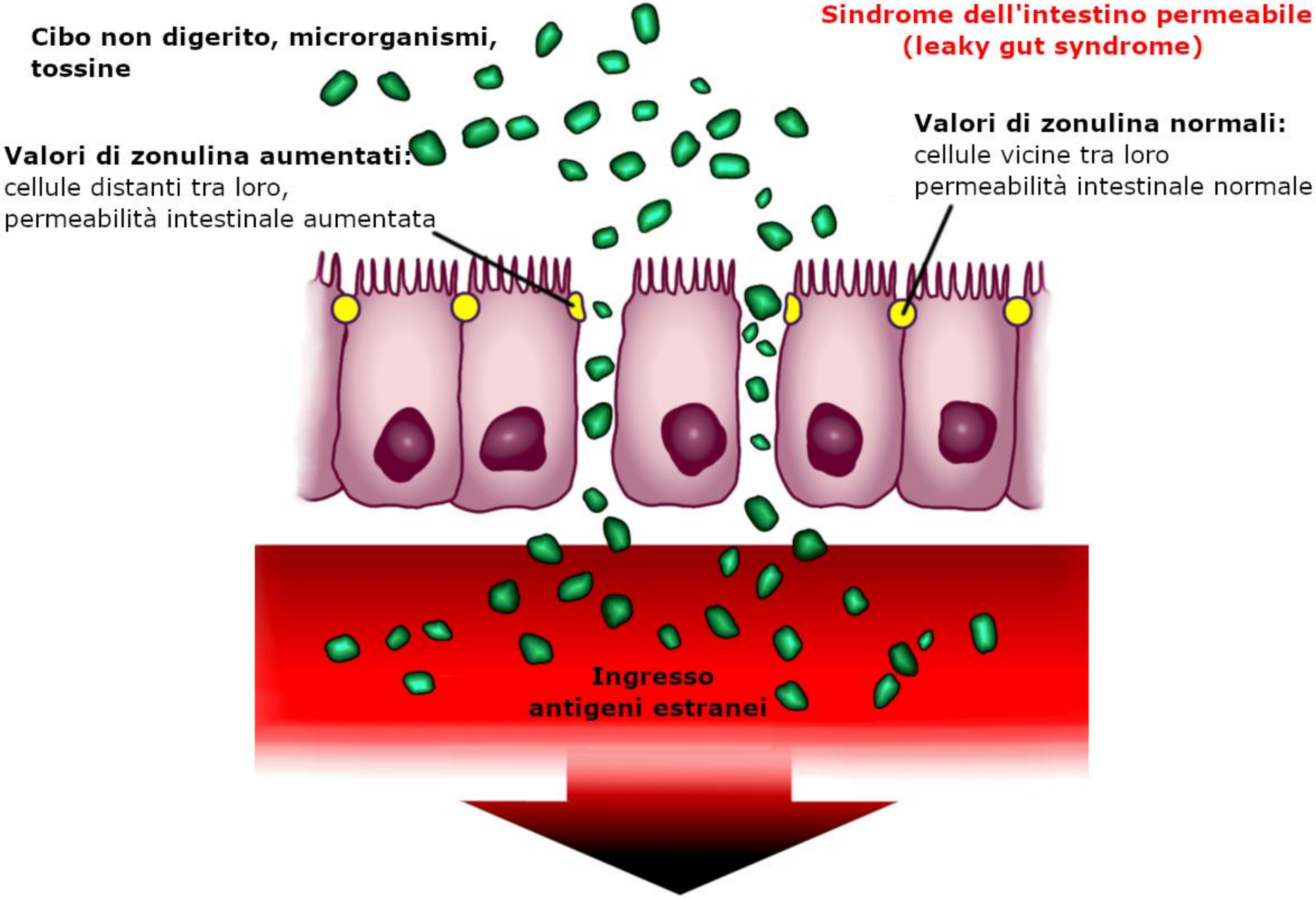
L'esposizione della mucosa intestinale al suo microbiota non solo promuove la produzione di IgA, ma assicura che siano prodotte le sub classi IgA, ad esempio le **IgAs** (secretorie), che svolgono una duplice funzione:

- *Prevengono l'ipercrescita del microbiota*
- *Minimizzano le sue interazioni col sistema immunitario della mucosa, riducendo la reazione dell'ospite ai microbi residenti* (Peterson et al.2007)

Difensine, catelicidine e lectine di tipo C sono prodotte nel tratto gastroenterico e possono agire sia sulle superfici di batteri commensali, sia di patogeni (Hooper, 2009; Salzman et al. 2007).



Sindrome dell'intestino permeabile (leaky gut syndrome)

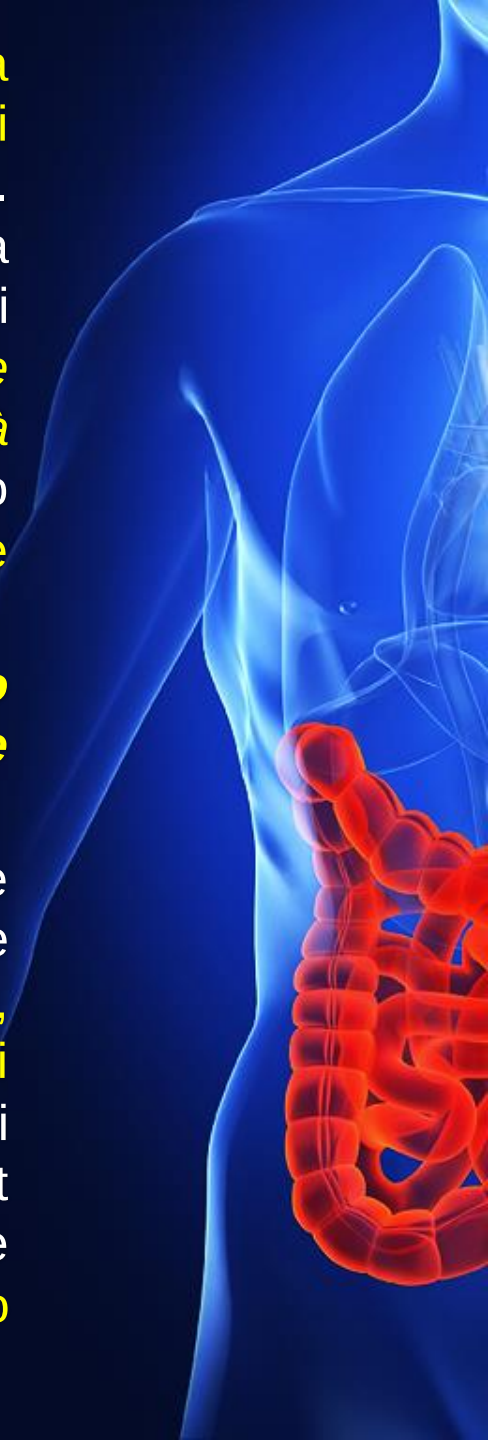


Infiammazione intestinale, intestino irritabile, autoimmunità

La **zonulina** è una proteina prodotta dalla mucosa intestinale danneggiata **che** modula le giunzioni strette degli enterociti, le cellule che costituiscono la parete intestinale. Essa si lega a uno specifico recettore dell'epitelio della superficie intestinale e innesca una cascata di reazioni biochimiche che creano un *disassemblamento delle cellule epiteliali con un conseguente aumento della permeabilità intestinale*. Ciò fa sì che alcune sostanze passino attraverso l'epitelio stesso scatenando nel tessuto linfoide sottostante una serie di reazioni immunitarie.

La zonulina è misurabile nel siero del soggetto attraverso un semplice prelievo di sangue (o anche nelle feci).

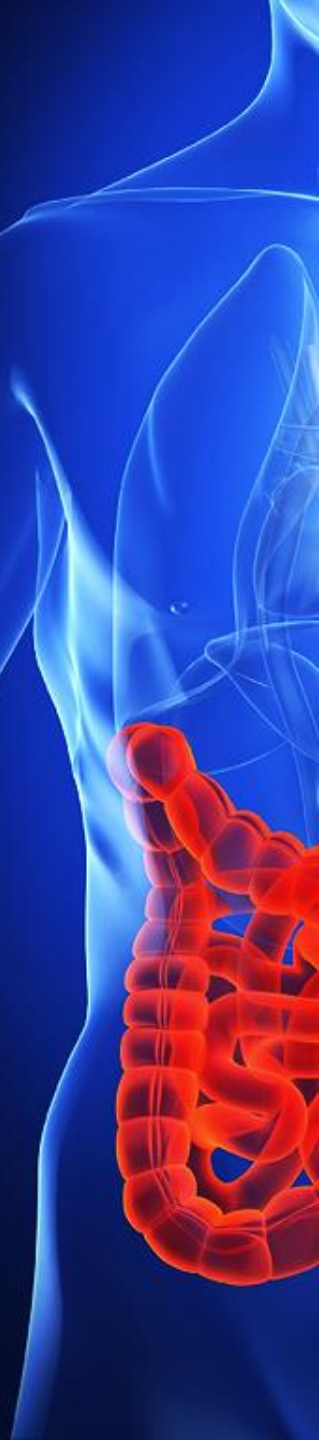
Uno squilibrio della barriera intestinale comporta in genere una risposta infiammatoria alterata che può presentare sintomi come mal di testa, ansietà, dolori articolari, stanchezza cronica ed in particolare disturbi intestinali (intestino irritabile, costipazione, diarrea). Secondo recenti studi l'aumento della permeabilità intestinale (leaky gut syndrome) è determinante nell'insorgenza di diverse patologie intestinali quali la celiachia, sindrome intestino irritabile, patologie autoimmuni (**Morbo di Crohn**).



***B. longum* ssp. *longum* CCM 7952, è in grado di aumentare l'espressione di zonulina-1 e occludina nell'epitelio intestinale, preservando la TJ e la funzione di barriera epiteliale, contribuendo potenzialmente a una riduzione degli stimoli infiammatori nella mucosa intestinale.** *Il ceppo batterico B. longum APC1472 ha recentemente dimostrato di modulare la segnalazione grelinergica in vitro, evidenziando il suo potenziale terapeutico come modulatore dell'appetito e dell'obesità.*

Tra gli agenti infettivi responsabili dell'aumento della quota in circolo della zonulina e delle corrispondenti proteine di giunzione ricordiamo (in ordine di importanza):

- Giardia L.
- Candida albicans
- **Enterovirus (Coxsakievirus B1-B6, Rotavirus)**
- Adenovirus
- Salmonella typhi
- EBV e CMV
- H. pylori
- Virus Influenza A e Influenza B
- Bordetella P.

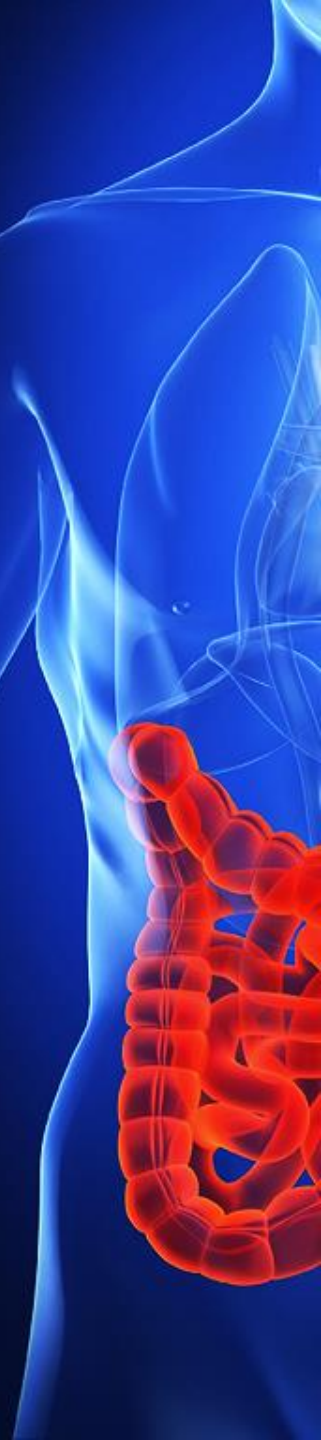


Il muco

Il muco è la prima barriera fisica che i batteri incontrano all'interno del tubo digerente. Agisce come scudo per l'epitelio, proteggendolo dai microorganismi e antigeni dannosi, ma anche come agente lubrificante per la motilità intestinale. È costituito da due strati:

- uno strato interno, fermamente aderente alle cellule epiteliali e di circa 50µm di spessore.
- uno strato esterno, più lasso e meno aderente, che è approssimativamente di 100µm di spessore, secondo le misurazioni effettuate negli animali di laboratorio.

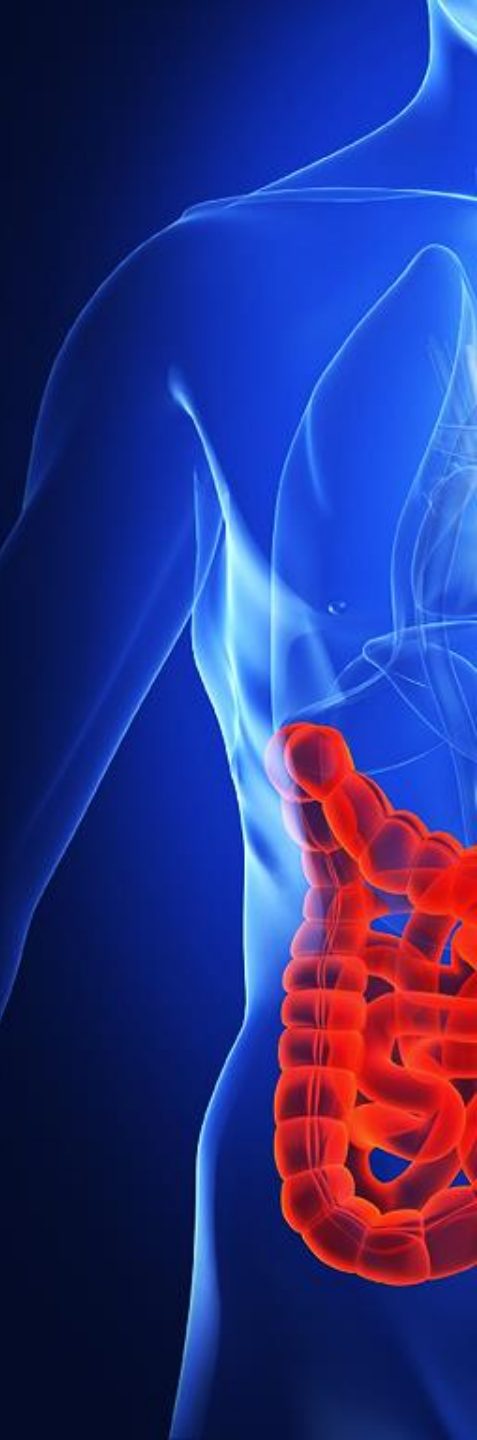
Lo strato mucoso interno è denso e non permette ai batteri di penetrare, rendendo quindi la superficie cellulare epiteliale libera dai batteri. Lo strato di muco interno si tramuta in quello più *esterno, che è l'habitat della flora commensale*. Il muco esterno si distribuisce su un volume molto ampio grazie alle attività proteolitiche proprie dell'ospite, ma anche fornite dalle proteasi e glicosidasi dei batteri commensali. Entrambi gli strati di muco sono organizzati attorno alla mucina altamente glicosilata MUC2*, che forma un copertura amorfa simil-polimerica e che viene secreta dalle cellule caliciformi. La mucina MUC2 è una molecola che si è preservata lungo l'evoluzione a iniziare dai primi metazoi.



•

*** La mucina 2 (MUC2) è una glicoproteina di 520 kDa appartenente alla superfamiglia delle mucine. Le mucine sono glicoproteine ad alto peso molecolare prodotte dalle cellule epiteliali.**

In condizioni normali, MUC2 viene espressa nell'intestino tenue, nel colon, nei bronchi e nelle ghiandole salivari. MUC2 è una mucina secreta osservata nel citoplasma di cellule caliciformi. L'espressione di MUC2 è stata riscontrata in **tumori del tratto gastrointestinale primari di origine gastrica, esofagea e nel colon**. L'espressione di MUC2 **è stata descritta nelle cellule caliciformi di carcinomi colo-rettali metastatizzati all'ovaio**, mentre non è stata osservata nell'adenocarcinoma mucinoso primario dell'ovaio. ***L'espressione di MUC2 è stata dimostrata anche nella metaplasia intestinale dell'esofago (metaplasia di Barrett)*** dove MUC2 è espressa nelle cellule caliciformi.



Vitamina D, sistema immunitario e microbiota: cosa emerge dallo studio

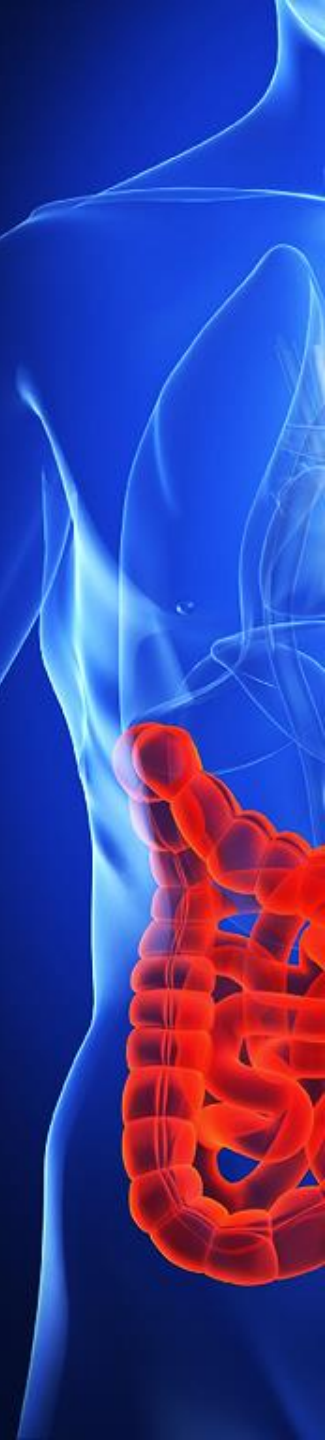
Dai dati, pubblicati sulla rivista *Metabolism*, risulta che la concentrazione di lipopolisaccaride (LPS) aumenta in concomitanza con la riduzione di 25(OH)D.

L'analisi di campioni di feci ha poi dimostrato che il gruppo di soggetti con maggiori **livelli di vitamina D** è caratterizzato dall'abbondanza di alcuni ceppi batterici, come per esempio *Prevotella*, e dalla scarsità di altri, tra cui i gram-negativi *Haemophilus* e *Veillonella*.

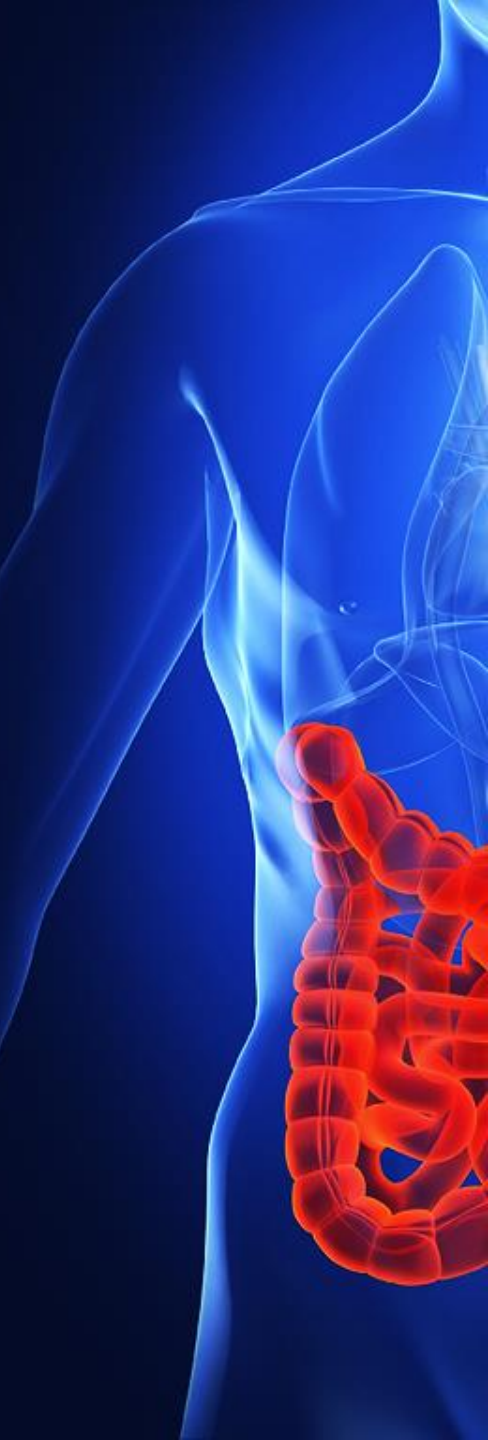
I ricercatori hanno rilevato anche un'associazione inversa fra i livelli di 25(OH)D e la concentrazione di **due proteine coinvolte nel processo di infiammazione** (**E-selectina** e **proteina c-reattiva**), risultato che suggerisce *un'**azione antinfiammatoria della vitamina D** anche in soggetti sani.*

Basandosi sui dati ottenuti, i ricercatori hanno quindi concluso che *la **capacità della vitamina D di modulare l'attività del sistema immunitario** a livello intestinale può influenzare la composizione del microbiota*.

Il suo ruolo nel mantenimento dell'**omeostasi immunitaria** sembrerebbe quindi dipendere, almeno in parte, dall'interazione con i batteri intestinali.

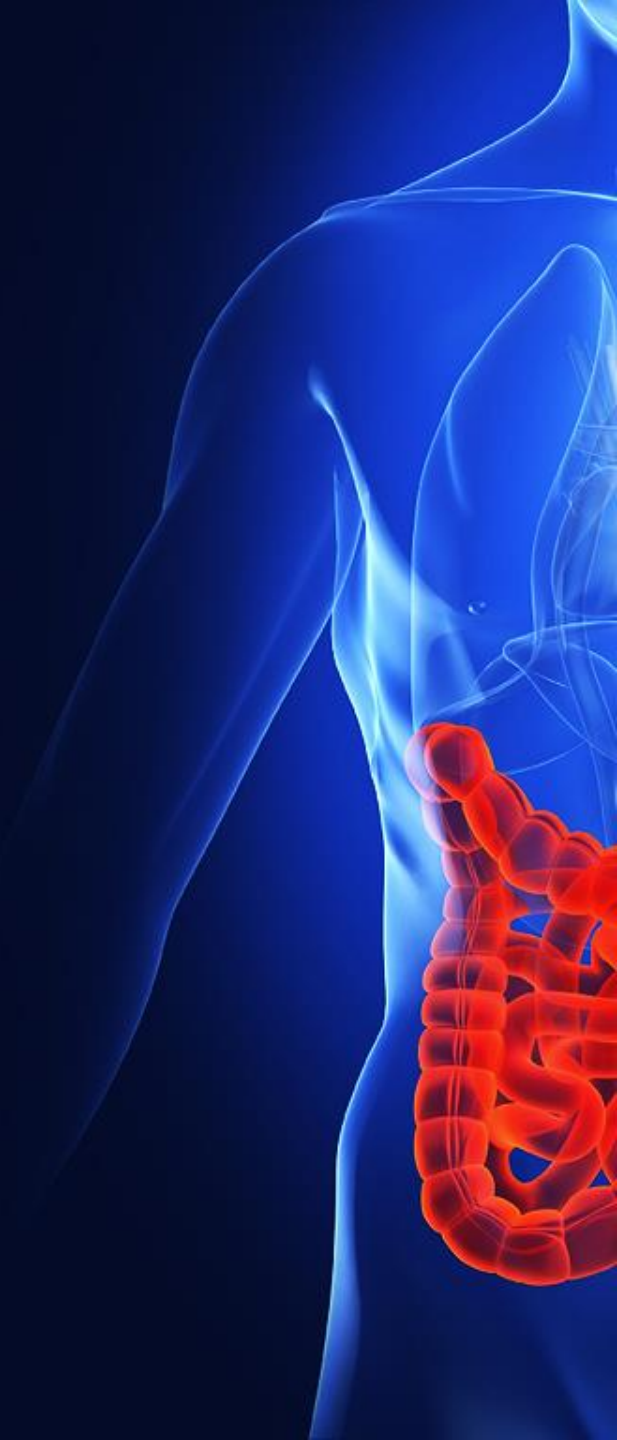


Carenza di Vitamina D e modificazioni del microbiota sono due fattori chiamati in causa per un possibile aumento del rischio di ammalare di sclerosi multipla. Tankou e colleghi hanno valutato la concentrazione di vitamina D nel sangue e la composizione del microbiota studiato raccogliendo campioni di feci. Nei soggetti che avevano concentrazioni nel sangue di vitamina D superiori a 40 ng/ml, nel microbiota c'era una particolare abbondanza di batteri denominati ruminococcacei. Questo tipo di microbo produce molecole dotate di un potente effetto di contrasto dei meccanismi dell'infiammazione. Inoltre, *ridotte quantità di ruminococcacei sono state rilevate in persone affette da gravi malattie infiammatorie croniche dell'intestino*. Gli autori hanno ipotizzato che, fra gli effetti positivi della vitamina D, ci possa essere una *modulazione del microbiota che fa prevalere batteri che contribuiscano a contrastare i processi dell'infiammazione*.



Ruminococcaceae è una famiglia di batteri della classe Clostridia. Tutte le Ruminococcaceae sono anaerobi obbligati. Tuttavia, i membri della famiglia hanno forme diverse, con alcuni a forma di bastoncino e altri a forma di cocchi. **Appartengono al Phylum dei Firmicutes**.

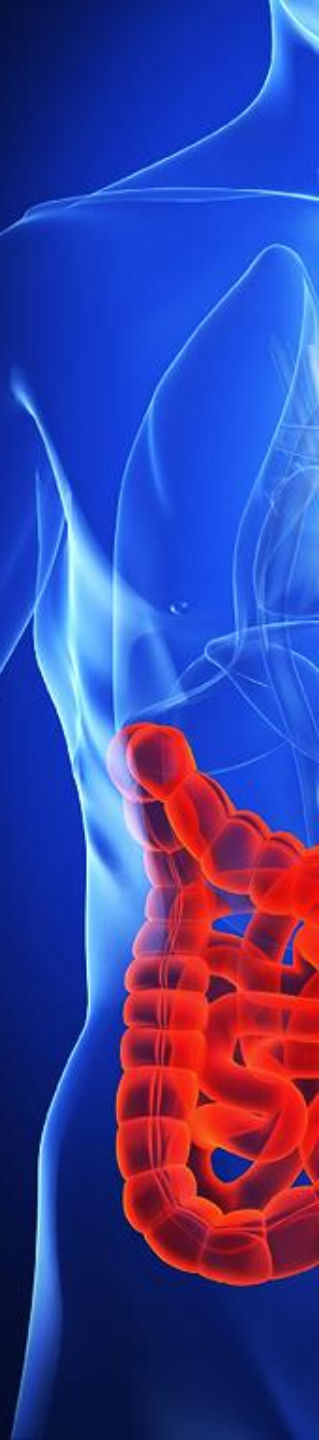
Le Ruminococcaceae insieme a Bacteroides e a Faecalibacterium prausnitzii appartengono ai ceppi con maggiore capacità saccarolitica, aventi cioè una maggiore capacità di fermentare carboidrati complessi (e sono quelli maggiormente utili nel trattamento specifico delle IBD).



I batteri che popolano il nostro intestino appartengono soprattutto a due tipi: ***Firmicutes*** e ***Bacteroidetes***. I primi, tra le diverse funzioni, giocano un ruolo importante anche per quanto riguarda il metabolismo del glucosio. I secondi invece si occupano di modificare le molecole più complesse del nostro intestino.

L'analisi di diversi studi condotti in merito hanno evidenziato che questi due gruppi fanno anche qualcosa in più: **regolano la risposta del nostro sistema immunitario** modificando la proteina Rdh7 (retinolo deidrogenasi 7). A sua volta, questa molecola trasforma la vitamina A presente nel tratto gastrointestinale in acido retinoico, la sua forma biologicamente attiva. I Firmicutes inoltre inviano segnali al fegato con l'intento di fargli immagazzinare la vitamina A che proviene dagli alimenti che introduciamo.

La ricerca ha dimostrato inoltre che, individui con carenza di proteina Rdh7, presentavano anche livelli più bassi di ***acido retinoico*** nel loro tessuto intestinale. Allo stesso tempo, presentavano meno cellule immunitarie produttrici di **IL-22**. Questa citochina svolge un ruolo molto importante, perché si occupa di ***dirigere la risposta del sistema immunitario contro i microorganismi che possono rappresentare una minaccia***.

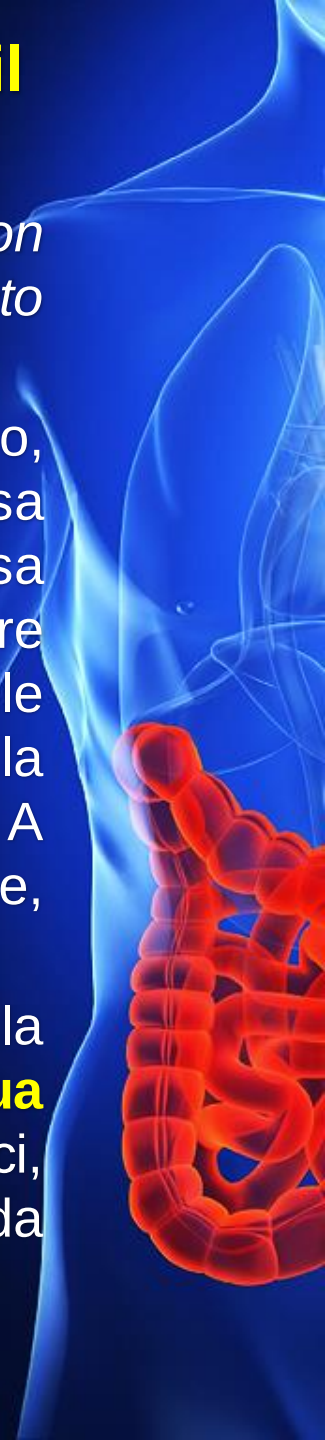


Permeabilità intestinale: una review del Cemad fa il punto sulle possibili cause

Una permeabilità intestinale fisiologica è sinonimo di salute, non solo intestinale. Tuttavia, molti fattori possono influenzare questo meccanismo, tra cui il microbioma.

Una **permeabilità intestinale fisiologica** è, molto spesso, sinonimo di **buona salute**, non solo a livello enterico. Da essa dipende infatti lo scambio di soluti e fluidi dal lume alla mucosa dell'intestino. Sono molti però i fattori che possono influenzare questo meccanismo, quali lo strato mucoso, l'integrità delle cellule epiteliali, la risposta immunitaria, la motilità intestinale, la vascolarizzazione intestinale e, non da ultimo, il **microbioma**. A questi si associano stress, invecchiamento, dieta, infiammazione, troppo esercizio fisico e farmaci.

Essendo il microbiota uno dei fattori che regolano la permeabilità, **fondamentale è il mantenimento della sua composizione in condizioni fisiologiche**. L'uso di antibiotici, probiotici e prebiotici è quindi da monitorare. Per quanto riguarda gli **antibiotici** è stato dimostrato per esempio che:



il loro uso, anche per un breve periodo, ha implicazioni importanti sull'ecologia del microbiota locale e può facilitare l'insorgere di infezioni;

la **ciprofloxacina riduce pesantemente *Ruminococcus*** spp;

la **ciprofloxacina in combinazione con beta-lattamici riduce la diversità del 25%, il core batterico da 29 a 12, con un innalzamento del rapporto *Bacteroidetes/Firmicutes;***

di contro, la rifaximina (Flagyl) riduce la virulenza batterica e la traslocazione **incrementando la presenza di *Bifidobacteria, Faecalibaterium prausnitzii e Lactobacilli*.**

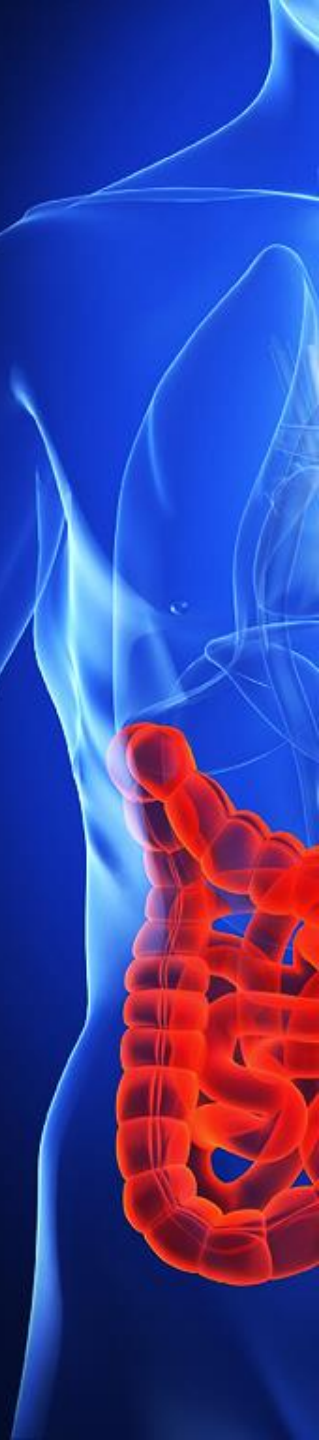
Per quanto riguarda i **probiotici**, è risultato che:

- ***L. rhamnosus* e *L. reuteri* hanno ridotto la permeabilità intestinale in 41 bambini con <u>dermatite atopica</u>**;
- ***L. rhamnosus* GG accelera la maturazione della barriera intestinale <u>promuovendo l'espressione di claudina 3</u> in modelli animali**;
- ***E. coli Nissle* 1917 (ECN) modula positivamente la barriera epiteliale intestinale <u>aumentando la produzione di proteine antimicrobiche e correlate all'integrità epiteliale</u> (ZO-1, ZO-2, claudina-14).** Dati analoghi sono stati ottenuti con test condotti su cellule CaCo2 di pazienti con patologia infiammatoria cronica;

- **La formulazione mista di *Lactobacillus, Bifidobacteria* e *Streptococchi***
- **protegge la barriera epiteliale intestinale di modelli murini di colite, sostenendo l'espressione delle proteine di giunzione stretta e prevenendo l'apoptosi**.

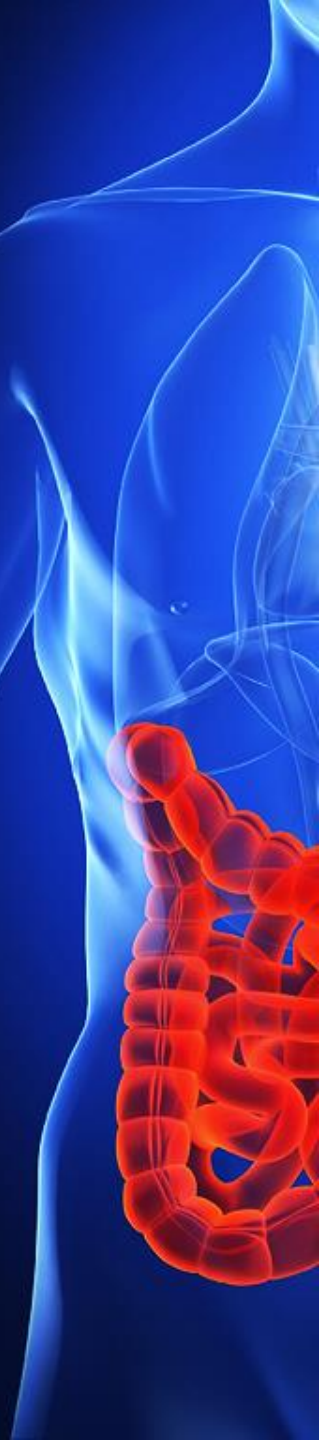
Da ultimo, studi con **prebiotici** hanno dimostrato per esempio che:

- composti saccaridici (*inulina, frutto-oligosaccaridi, galattosaccaridi* ecc.) hanno **effetti positivi sulla permeabilità intestinale**;
- di contro, **altri prebiotici e loro prodotti di fermentazione hanno ridotto la permeabilità gastrointestinale agendo direttamente sull'integrità delle cellule epiteliali e indirettamente potenziando la crescita locale di simbionti e la produzione di mucina**.



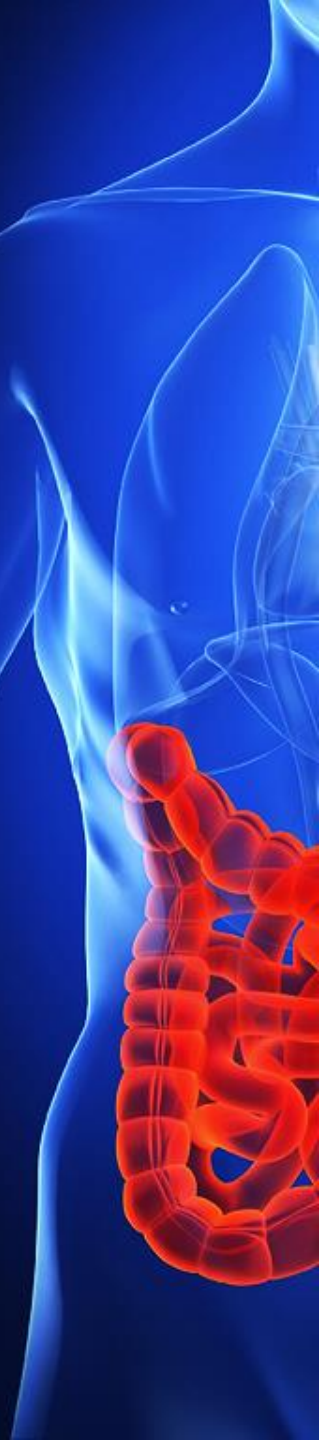
Ma come valutare la permeabilità intestinale reale? Diversi sono i metodi, più o meno innovativi. In breve:

- **rapporto lattulosio/mannitolo**, test non invasivo tipicamente utilizzato per testare la permeabilità intestinale in caso di svariati quadri patologici (dermatite atopica, intolleranza al lattosio, celiachia ecc.); è basato sulla somministrazione orale di questi due composti, entrambi degradati da batteri e secreti per via urinaria, ma caratterizzati da differente peso molecolare e da una diversa via di assorbimento; **Il rapporto Lattulosio/Mannitolo, consente di valutare la permeabilità della parete intestinale e la sua capacità di assorbimento**. Mannitolo e Lattulosio sono due zuccheri inerti, non metabolizzati dall'intestino, e quindi la quota assorbita di questi due zuccheri si ritrova completamente escreta nelle urine entro 6 ore. Il **mannitolo**, viene assorbito agevolmente attraverso la mucosa intestinale. Nell'intestino sano la percentuale di assorbimento del mannitolo è del 14%. Valori inferiori sono indice di alterato assorbimento intestinale.
- Al contrario il **lattulosio**, in condizioni fisiologiche viene assorbito assai scarsamente, meno dell'1%. Valori più elevati si presentano in condizioni di alterato assorbimento intestinale.



- **quantificazione di saccarosio e sucralosio**, anch'essi escreti per via urinaria;
- **51 Cr-EDTA**, composto radiomarcato, non tossico e diffuso per via paracellulare attraverso l'epitelio intestinale;
- **marcatori sierologici** (LPS* , zonulina ecc.);
- **microscopio confocale** per la valutazione istologica *in vivo*;
- **misurazione della resistenza elettrica transepiteliale/transendoteliale** (TEER) attraverso lo strato monocellulare, utile nella determinazione dell'integrità delle giunzioni strette.

* A giocare un ruolo fondamentale sono i grassi di origine alimentare, associati all'aumento dello stress ossidativo, **citochine e livelli di lipopolisaccaride (LPS)** – **l'endotossina legata alla sepsi e all'endotossiemia metabolica**, stato associato a infiammazione di basso grado e disturbi cardio-metabolici.



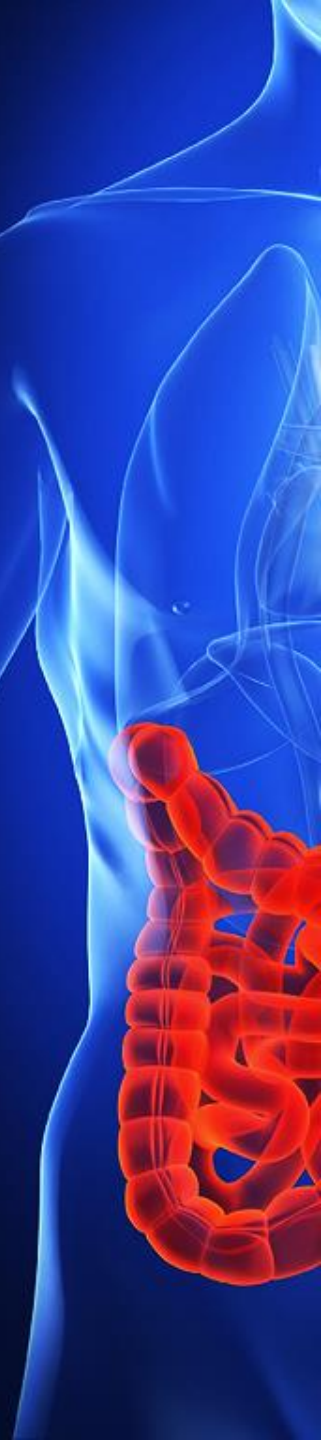
Il Disbiosi test

Il **DISBIOSI TEST** rileva la presenza nelle urine di due metaboliti del triptofano, denominati **Indicano** e **Scatolo**, che permettono di verificare l'eventuale presenza di fenomeni fermentativi e/o putrefattivi a livello intestinale: nel caso in cui il livello di **scatolo** risulti essere particolarmente **elevato,** si tratta di una forma di *colite putrefattiva* a carico del **colon** (intestino crasso). In questo caso si consiglia di procedere con integrazione specifica a base di *Bifidobatteri;* se, al contrario, il valore **elevato** sia quello dell'**indacano** si tratta di una forma di *colite fermentativa* a carico dell'**intestino tenue**. In questo caso quindi è consigliabile l'integrazione con ceppi di *Lattobacilli*.

In questo caso le regole alimentari da adottare saranno le seguenti:

Ridurre drasticamente:

1. ***Zuccheri raffinati***
2. ***Latte vaccino, formaggi e derivati***
3. ***Carni rosse e insaccati***
4. ***Dolci di pasticcerie***
5. ***Fritture***
6. ***Alcolici e superalcoolici***
7. ***Cioccolata***



Il test è consigliato in caso di:

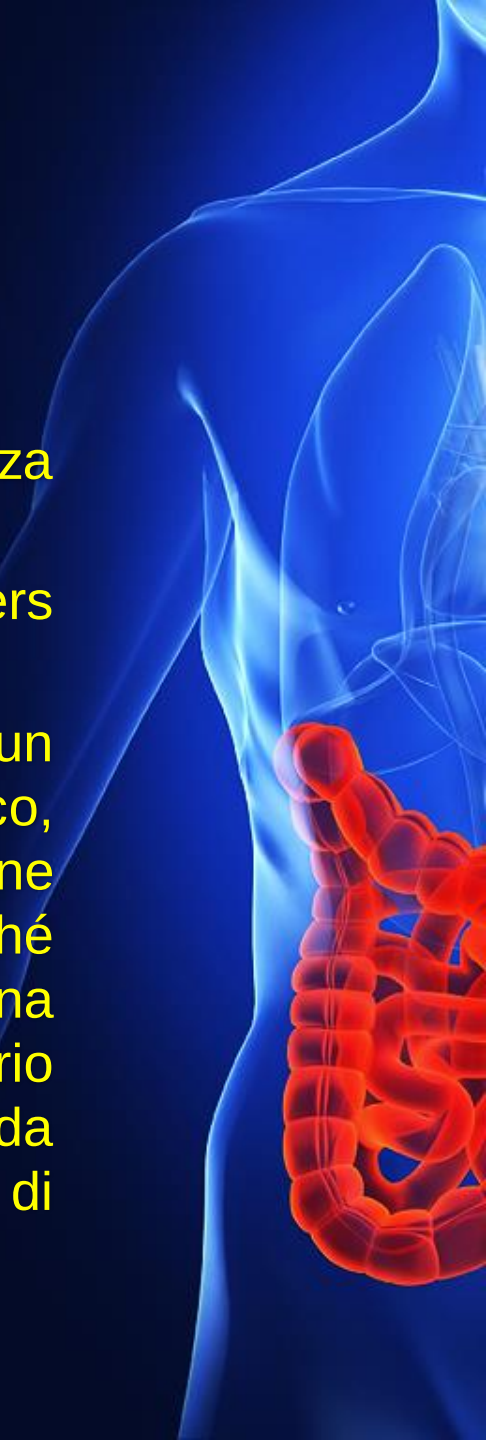
1. **Cattiva digestione** con conseguenti alterazioni del transito intestinale (stitichezza o diarree frequenti, meteorismo, colon irritabile, irregolarità intestinale);
2. Senso di **gonfiore** e **tensione addominale**, con dolore, flatulenza, indisposizione e malessere generale;
3. **Alitosi** e difficoltà digestive;
4. Aumentata **suscettibilità alle infezioni** dovuta ad una diminuzione delle difese immunitarie;
5. Aumentata probabilità di **micosi nell'intestino** (candidosi), di **vaginiti** e **cistiti** nella donna;
6. **Disturbi di carattere generale**: nervosismo, ansia, disturbi del sonno, stanchezza, astenia e cambiamenti dell'umore.

Esempi di disbiosi e come intervenire:

PANS (Sindrome Neuropsichiatrica Infantile ad Insorgenza Acuta)

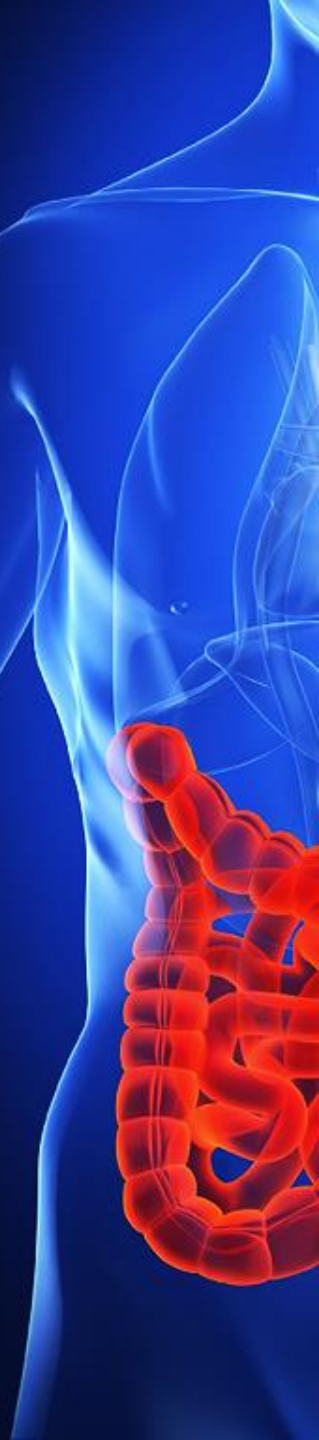
PANDAS (Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcus)

Nello specifico queste forme risentono fortemente di un grosso contributo terapeutico nei riguardi dello Streptococco, inteso ovviamente come un disturbo da immunomediazione e quindi saranno fortemente sconsigliati gli antibiotici perché non ci troviamo dinanzi ad un problema infettivo con una franca positività in corso (terapia quindi inutile). Al contrario andrà affiancata anche una integrazione probiotica che vada a contrastare l'eccesiva crescita dei *Bacteroidetes* e di contro l'ingente riduzione dei *Firmicutes* e dei *Bifidobatteri.*



Andranno ricercate quindi le possibili cause dell'incremento batterico (Bacteroidetes: Gram+):

- diete ricche di proteine animali (antitetico delle Prevotelle che, al contrario aumentano in presenza di diete ricche in *verdure, carboidrati e lipidi*: le Prevotelle appartengono al Phylum dei *Bacteroidetes*)
- ripristino di condizioni in grado di favorire la crescita dei *Firmicutes* (*F. Prausnitziy*, per esempio, grande produttore di *Butirrato* e *mucina* con *netto miglioramento della permeabilità intestinale*, grazie anche al mantenimento di una giusta forza di coesione delle TJ). Aumento della quota delle *Ruminococcacee,* rappresentanti l'eneterotipo 3, che si riducono, per esempio, in presenza di diete iperproteiche, dando luogo a stipsi, obesità, fermentazioni intestinali, aumentano in presenza di verdure crude, legumi cereali integrali, pesche, mele, albicocche, pere.
- Aumentare la quota dei *Bifidobatteri* elementi fondamentali, specie in età pediatrica, per un buon mantenimento delle risposte immunitarie, in corso di malattie autoimmuni, dermatologiche e di natura allergica.



Situazioni di ridotta α biodiversità daranno luogo a:

- **diarrea**, o feci scomposte
- fermentazioni intestinali, dolori addominali

in queste condizioni ci sarà:

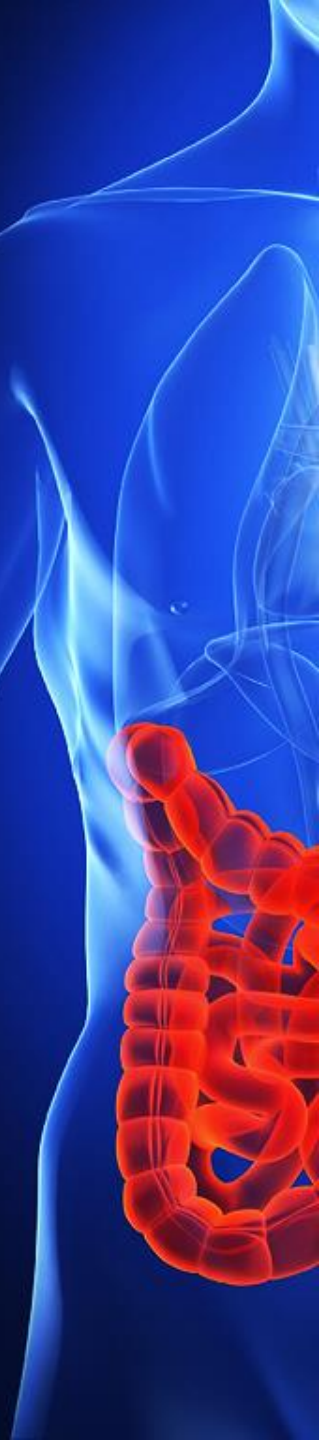
- prevalenza di Bacteroidetes e riduzione dei Firmicutes
- riduzione di batteri butirrato-produttori
- forte riduzione di Akkermansia muciniphyla (aumenta col digiuno, con i cibi fermentati: Kefir, gorgonzola, crauti, miso, natto)
- aumentata sensibilità, per esempio, al glutine/lattosio
- sindrome dell'intestino irritabile

Al contrario, condizioni di elevata α biodiversità avranno:

- **stipsi,** e/o feci caprine,
- riduzione della fisiologica peristalsi

In queste condizioni avremo invece:

- Aumento della quota dei Firmicutes
- Aumento dei Clostridiales e di altri butirrato produttori
- Aumento della quota delle Ruminococcacee
- eccessivo introito di proteine con riduzione di carboidrati, verdure e lipidi.



La fosfatasi alcalina ci aiuta a tollerare i batteri intestinali

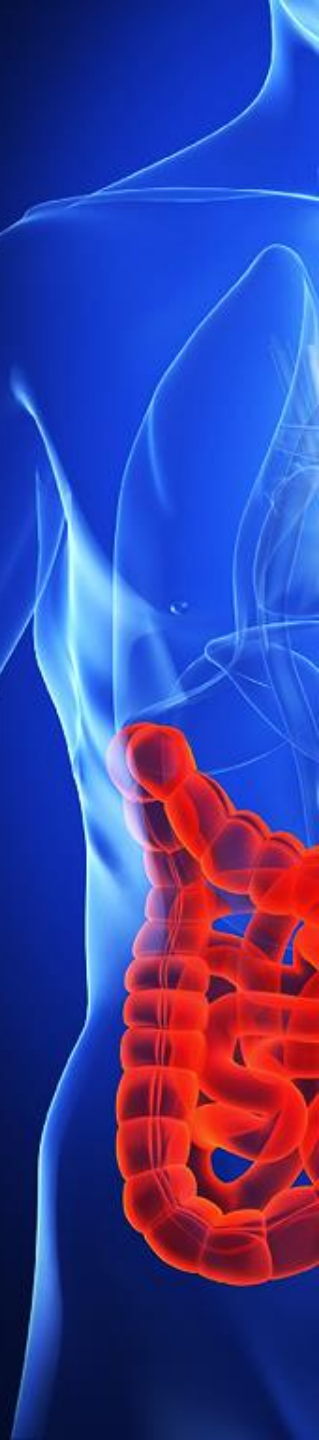
Il nostro sistema immunitario è progettato per riconoscere i batteri e distruggerli. Quando i germi penetrano nel nostro organismo, il sistema immunitario si attiva fortemente, per distruggerli, creando una sorta di sintomi caratteristici legati all'attivazione e alla messa in circolo di particolari molecole generando:

- Brividi di freddo >>>> **febbre**
- Debolezza fisica, astenia
- Malessere generale
- Ipotensione
- Dolori articolari

Il quadro in questione è frutto dell'attivazione di una parte del sistema immunitario chiamato "**immunità innata**"

Allora sorge una domanda spontanea: **come facciamo a tollerare la presenza dei batteri intestinali?**

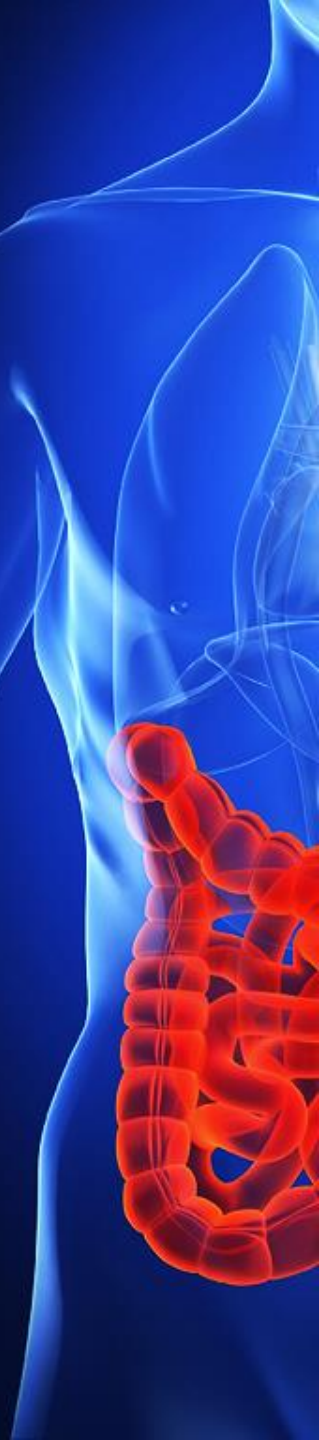
Molti dei batteri che vivono nel nostro intestino sono rivestiti all'esterno da una membrana, chiamata LPS (Lipopolisaccaridi); gli LPS sono delle potenti endotossine che, una volta venute a contatto con il sistema immunitario, inducono la risposta con il quadro caratteristico sopra-riportato.



Nonostante tutto, il nostro organismo ospita circa 1,5 Kg di batteri con relativi LPS, e questi tutto sommato non ci accrediscono, anzi ci fanno stare meglio. Come mai?

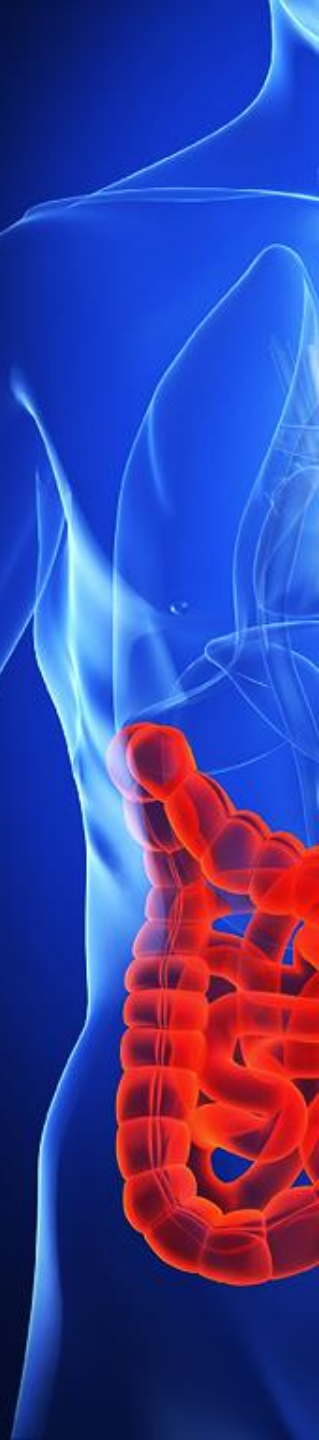
La risposta a questo quesito ci arriva dalla ricerca scientifica che ci dice che l'organismo si difende dai batteri e quindi dai LPS grazie alla produzione di un enzima: la Fosfatasi Alcalina Intestinale (IAP).

La fosfatasi alcalina (AP) è una superfamiglia di metallo-enzimi nota per catalizzare la rimozione idrolitica del fosfato da una varietà di molecole. La famiglia AP dei mammiferi è composta da diversi isoenzimi che possono essere classificati come AP **non specifici del tessuto** (TNAP) espressi in AP, localizzati a livello di ossa, fegato e reni, e **specifici del tessuto**, espressi a livello intestinale, placentare e di cellule germinali dell'enzima. La fosfatasi alcalina intestinale (IAP) **mostra la sua attività biologica in condizioni alcaline con la più alta attività a pH 9,7**. La IAP è espressa in tutto il tratto gastrointestinale con la massima espressione nel duodeno e in misura molto minore nel digiuno, nell'ileo e nel colon, ma è stata rilevata anche nelle feci. **È interessante notare che l'espressione di IAP è quasi assente nello stomaco sano, ma l'isoforma TNAP è stata identificata a bassi livelli nel colon sano.**



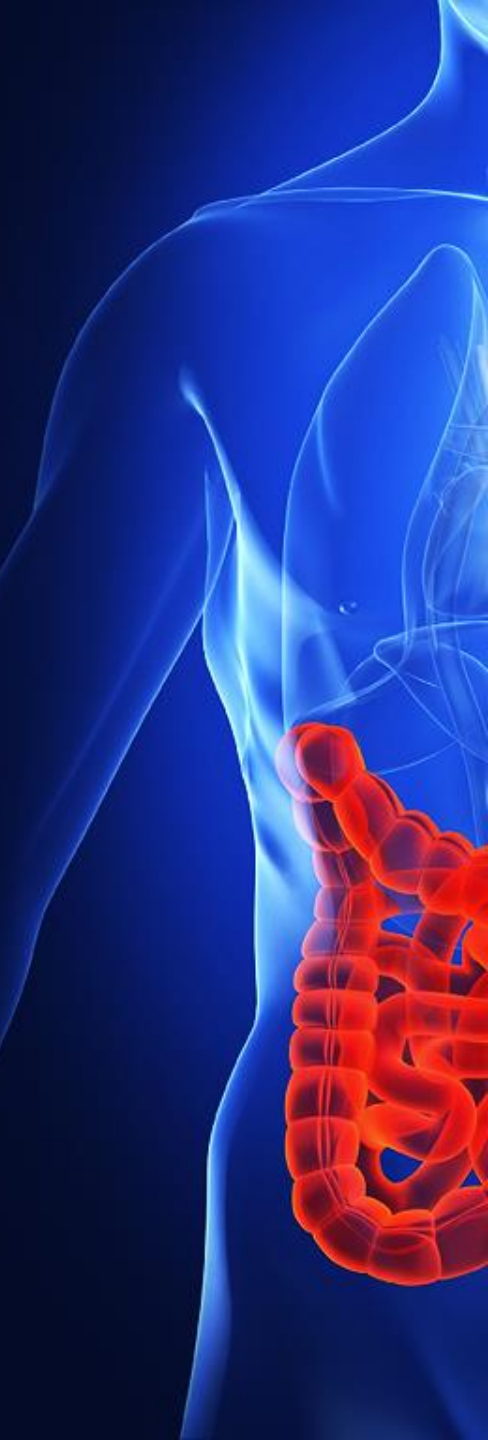
Lo IAP presente nei microvilli apicali del bordo a spazzola degli enterociti e secreto sia nel lume intestinale che nel flusso sanguigno è stato considerato un fattore di difesa della mucosa intestinale essenziale per mantenere l'omeostasi intestinale. Fawley and Gourlay in una revisione di dati estrapolati da numerosi studi su animali e su umani, hanno dimostrato **che lo IAP esogeno esercita un effetto protettivo contro l'infiammazione intestinale e sistemica in una varietà di malattie**.

Lo IAP è espresso in tutto l'intestino con la massima espressione nel duodeno, mentre la sua attività fosfatasica è più elevata nell'ileo terminale. **Lo IAP ha dimostrato di inibire l'attivazione di NF-KB e la sua traslocazione nel nucleo, prevenendo così l'espressione delle citochine pro-infiammatorie**. Tra le principali funzioni di IAP nel tratto gastrointestinale ci sono la regolazione della secrezione di bicarbonato e del pH sulla superficie duodenale, **la modulazione dell'assorbimento intestinale di acidi grassi a catena lunga (LCFA) e la disintossicazione dell'endotossina lipopolisaccaride (LPS) che comporta la produzione di effetti antinfiammatori non solo all'intestino ma anche sistemici**. Queste azioni di IAP sono fondamentali per il mantenimento della normale omeostasi del microbiota intestinale e l'inibizione della loro traslocazione attraverso la barriera mucosa dell'intestino.



Tra quelle menzionate, la capacità di IAP di inattivare LPS sembra essere particolarmente importante. **LPS è un componente importante della membrana esterna dei batteri Gram-negativi che compongono una parte sostanziale del microbiota intestinale dei mammiferi**.

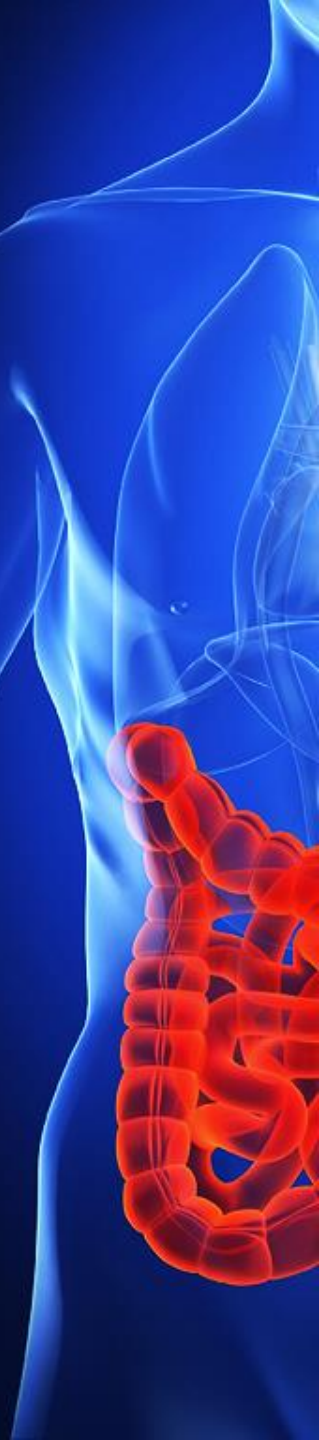
L'LPS potrebbe legarsi alla proteina legante l'LPS (LBP) e il complesso LBP-LPS viene trasferito al CD14 legato alla membrana o solubile, permettendo così interazioni con i recettori toll-like (TLR) sulle membrane cellulari. All'attivazione da parte di LPS, il recettore toll-like 4 (TLR4) **avvia una cascata di segnalazione che porta al rilascio di citochine proinfiammatorie come fattore di necrosi tumorale-*α* (TNF-*α*), interleuchina-1 (IL-1), IL-6, IL-8 e IL-12**. ***L'endotossemia derivante dall'abbondanza di LPS nel flusso sanguigno può portare a uno shock settico, se la risposta immunitaria è gravemente pronunciata ma, a livelli di immunità più bassi, può anche stimolare una lieve risposta infiammatoria cronica associata a tutte le malattie infiammatorie croniche***.

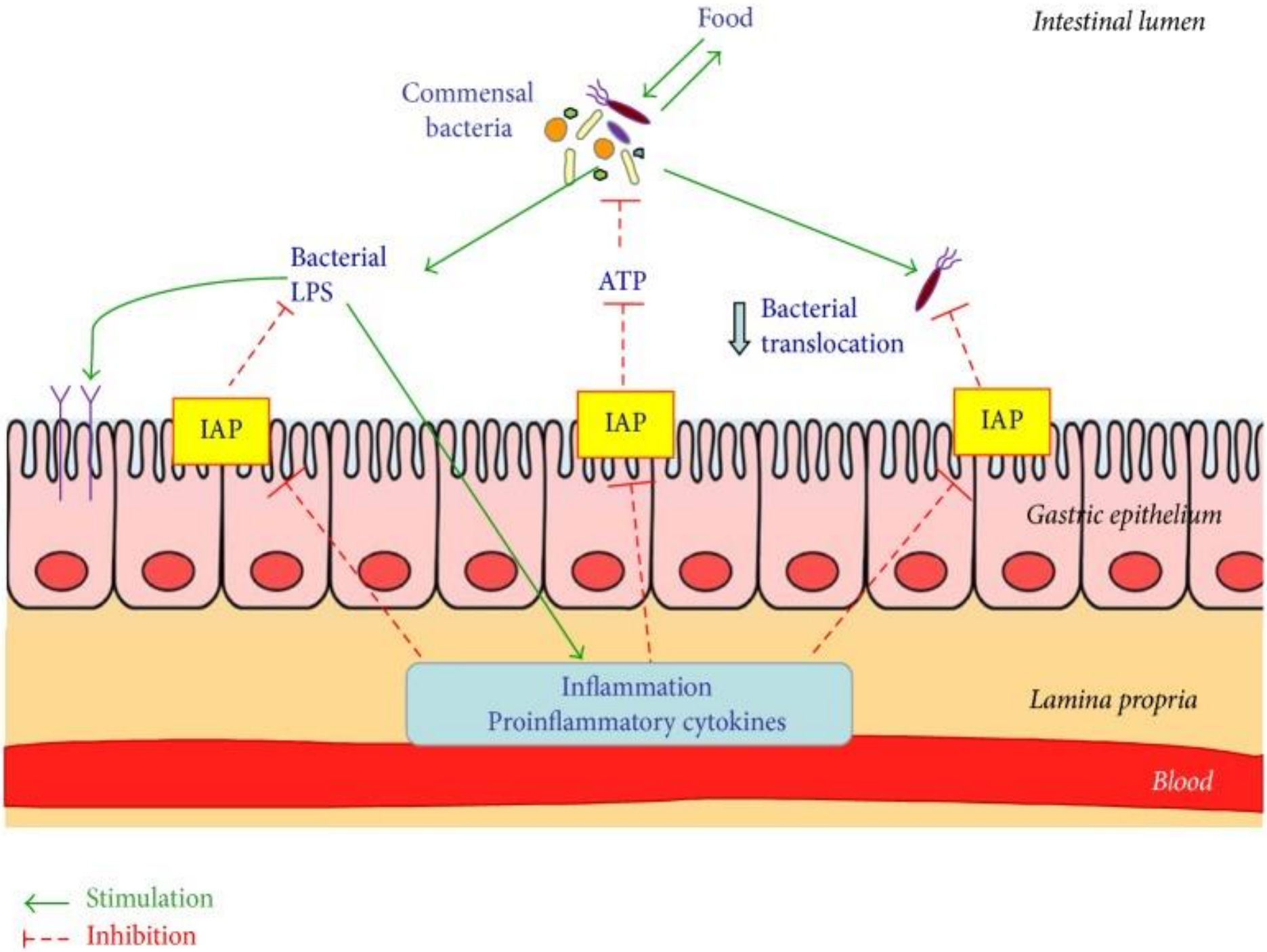


In sostanza, la mucosa intestinale di una persona sana, produce fosfatasi alcalina (IAP) che neutralizza le endotossine batteriche dei Gram-negativi (LPS). Le tossine batteriche LPS, contengono due gruppi fosfato; la fosfatasi alcalina prodotta dall'intestino neutralizza uno o entrambi i gruppi fosfato dei LPS, disattivandoli. In questo modo le endotossine batteriche LPS perdono la loro capacità pro-infiammatoria divenendo praticamente innocue per il sistema immunitario.

Per favorire l'attività della fosfatasi alcalina intestinale (IAP) è di valido aiuto l'uso dello zinco. Infatti tale elemento è il cofattore della fosfatasi alcalina. Quindi un'alimentazione ricca anche di zinco ci permetterà un buon funzionamento della IAP e di conseguenza la neutralizzazione delle endotossine LPS. La cottura dei cibi elimina e distrugge la fosfatasi alcalina, pertanto si consiglia il consumo di alimenti freschi e crudi come frutta e verdura. Questi infatti, consumati crudi, apportano molti enzimi tra cui anche la fosfatasi alcalina (anguria, uva, lattuga, piselli freschi, mela, cipolle). Inoltre l'LPS defosforilato (vedi sopra) dovuto all'IAP non è più in grado di causare la stimolazione TLR4 e potrebbe persino bloccarne il legame con il recettore che agisce come antagonista dei recettori TLR-4.

L'interazione LPS con l'IAP è stata supportata dal fatto che la somministrazione di IAP esogena ha attenuato la tossicità mediata da LPS.




Food
Intestinal lumen
Commensal bacteria
Bacterial LPS
ATP
Bacterial translocation
IAP
IAP
IAP
Gastric epithelium
Inflammation
Proinflammatory cytokines
Lamina propria
Blood
Stimulation
Inhibition

Studi recenti condotti da Stephen Vanner della Queens University, Premysl Bercik della McMaster University e dai loro colleghi hanno dimostrato che la ***riduzione dell'assunzione di carboidrati fermentabili allevia il dolore nelle persone con IBS*** *ed è associata a cambiamenti nel microbiota intestinale e livelli ridotti di istamina nelle urine.*

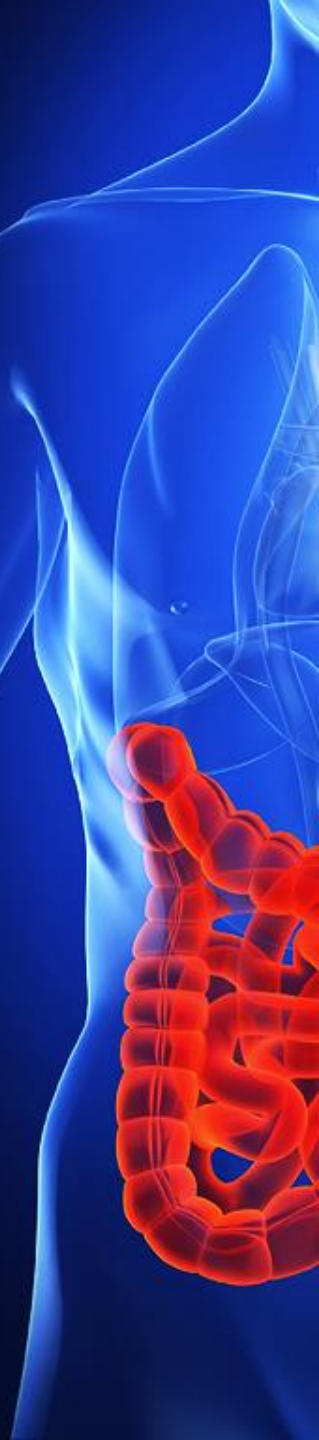
L'istamina è un mediatore del dolore ed è tipicamente rilasciata dai globuli bianchi nel flusso sanguigno quando il sistema immunitario sta "rispondendo" a una sollecitazione allergica.

In particolare, i livelli di istamina nelle feci sono risultati più alti quando i pazienti riferivano forti dolori e più bassi quando non li presentavano. Dai dati ottenuti è emerso anche che ***circa il 25% dei pazienti aveva livelli insolitamente alti del batterio Klebsiella aerogenes***.

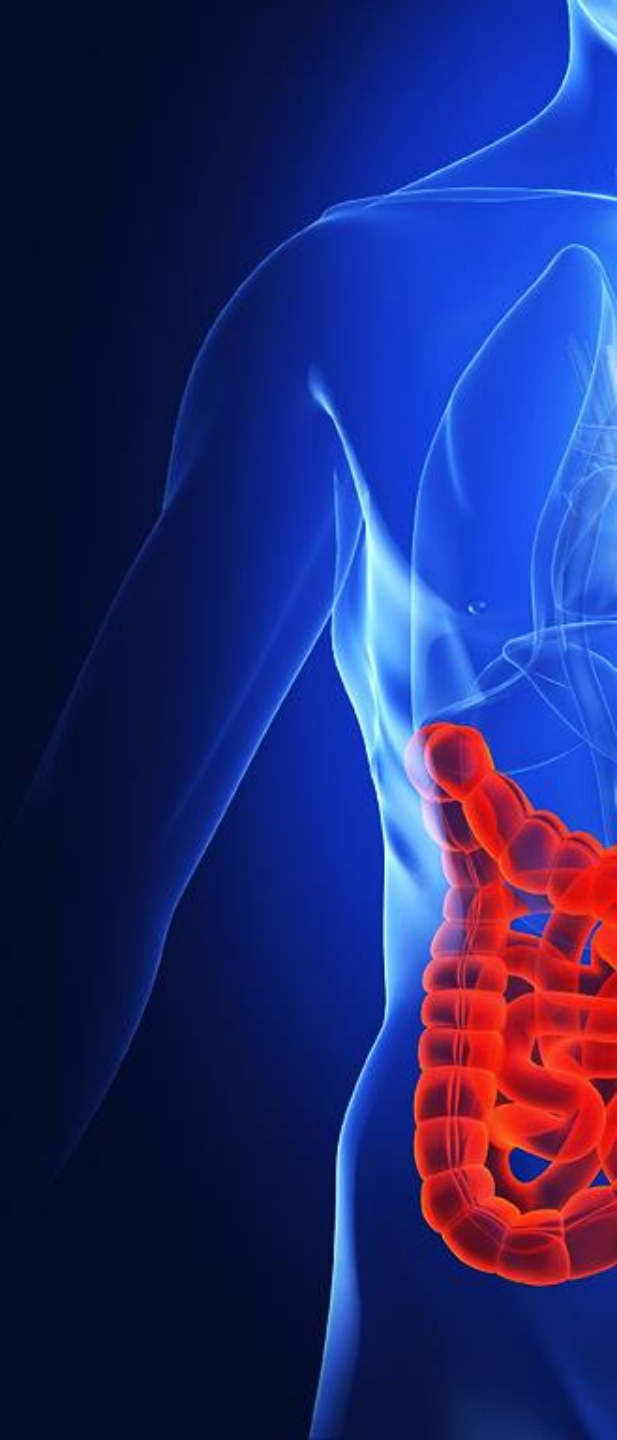
Ulteriori esperimenti sui topi hanno mostrato che ***K. aerogenes è il principale produttore di istamina nell'intestino*** *a partire dall'istidina alimentare, un aminoacido essenziale presente nelle proteine animali e vegetali.*

L'istamina prodotta da *K. aerogenes* attiva il sistema immunitario intestinale attraverso un recettore che attira nell'intestino i mastociti, i quali a loro volta contribuiscono ad alzare ulteriormente i livelli di istamina. Questo processo innesca infiammazione e dolore.

Il blocco del recettore dell'istamina nei topi *che hanno ricevuto il trapianto microbico fecale* ***ha ridotto la sensibilità al dolore e abbassato i livelli dei mastociti****. Lactobacillus Plantarum LP115 efficace nei confronti della Klebsiella spp.*

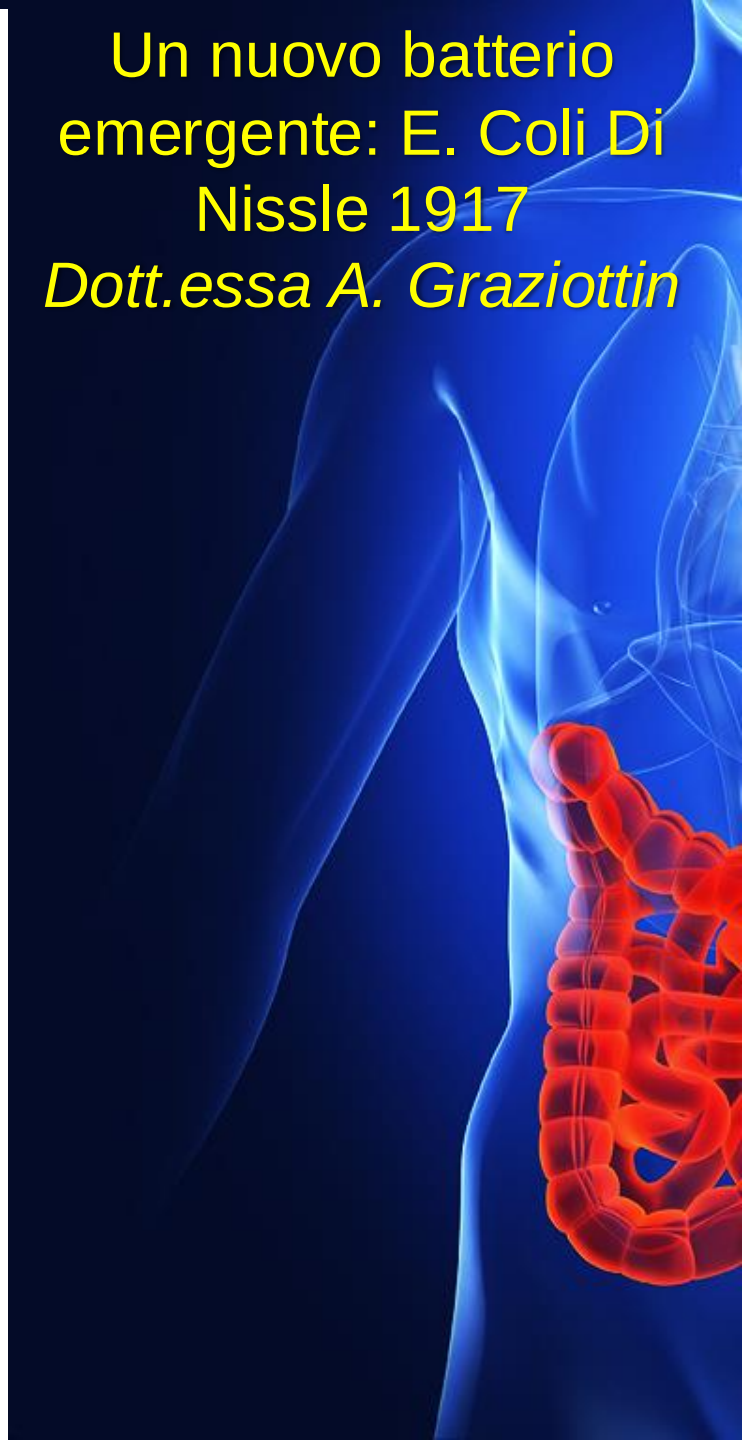


È interessante notare che i neonati con un elevato rapporto Klebsiella/Bifidobacterium (K/B) (superiore al rapporto K/B mediano della popolazione) all'età di 3 mesi avevano un rapporto di probabilità di sviluppare allergia entro i 3 anni di età di 9,00 (intervallo di confidenza del 95% 1,46 - 55,50) rispetto a quelli con basso rapporto K/B. Questo studio ha dimostrato una relazione tra il rapporto dei generi *Klebsiella* e *Bifidobacterium* durante la prima infanzia e lo sviluppo di allergia pediatrica nell'infanzia. **Lo studio postula che un elevato rapporto *Klebsiella/Bifidobacterium* nella prima infanzia potrebbe essere un potenziale indicatore di un aumentato rischio di sviluppo di allergia**. Questa linea di ricerca potrebbe consentire future strategie di intervento nella prima infanzia per prevenire o curare l'allergia. Lo studio fornisce nuove informazioni sulle firme microbiche associate alle allergie infantili, in particolare ***suggerisce che un rapporto elevato tra Klebsiella e Bifidobacterium potrebbe essere un potenziale biomarcatore del microbiota precoce delle malattie allergiche***.



Un nuovo batterio emergente: E. Coli Di Nissle 1917

Dott.essa A. Graziottin



Introduzione

Quanto pesano i **fattori intestinali** nelle disfunzioni sessuali femminili, e soprattutto nel **dolore vulvare** e nella **dispareunia**? Molto raramente viene preso in considerazione un possibile coinvolgimento dell'intestino: l'organo immunocompetente più importante del corpo e grande regista, ancora negletto, della salute e, se trascurato, della malattia.

In realtà, le ultime evidenze scientifiche dimostrano come le **patologie gastrointestinali** – stipsi, diarrea, sindrome dell'intestino irritabile (Irritable Bowel Syndrome, IBS) – o semplicemente la **disbiosi intestinale**, e le **patologie ginecologiche e sessuali** – vulvodinia, endometriosi, cistiti e candide ricorrenti – siano spesso **compresenti nella donna**, con frequenti comorbilità.

Fino al 50% delle donne con **sindrome dell'intestino irritabile** soffre anche di dolore all'inizio della penetrazione, con **vestibolite vulvare/ vulvodinia**.

Mastociti e infiammazione

Nel caso della vestibolite con dolore vulvare, assistiamo a un'infiammazione della mucosa del vestibolo vaginale, infiammazione che può essere attivata da agenti infettivi, immunitari, chimici, meccanici, ormonali e anche psicogeni. Il **mastocita** è la cellula di difesa che media il passaggio tra la **causa** che danneggia il tessuto (noxa patogena) e la **risposta infiammatoria**. Tutti gli stimoli che causano l'infiammazione, infatti, benché diversi, confluiscono su questa cellula, attivandola o, se persistono cronicamente, iperattivandola.

In seguito allo stimolo infiammatorio il mastocita risponde rilasciando diverse sostanze che mediano l'infiammazione e che, se presenti in quantità eccessive, possono essere dannose per i tessuti. Si osserva in particolare la **vasodilatazione**, l'**edema**, il **dolore**, amplificato dalla sovrapproduzione di **NGF** (Nerve Growth Factor, fattore di crescita dei nervi), con il passaggio conseguente del dolore stesso **da nocicettivo a neuropatico**, e del quadro clinico proprio della vestibolite vulvare a quello più complesso e impegnativo della vulvodinia (Keppel Hesseling et al, 2016).

Se il mastocita viene continuamente sollecitato, infatti, si verifica un processo di iperattivazione dello stesso con **cronicizzazione del dolore** (Graziottin et al, 2014). In questa condizione è come se tutto l'organismo vivesse in uno stato di **allarme permanente**. Il fattore di crescita dei nervi può essere rilasciato in quantità anche 50 volte superiori alla norma e la conseguente, incontrollata proliferazione delle terminazioni nervose del dolore è la principale responsabile dell'**iperalgesia intensa e persistente** riferita dalla donna.

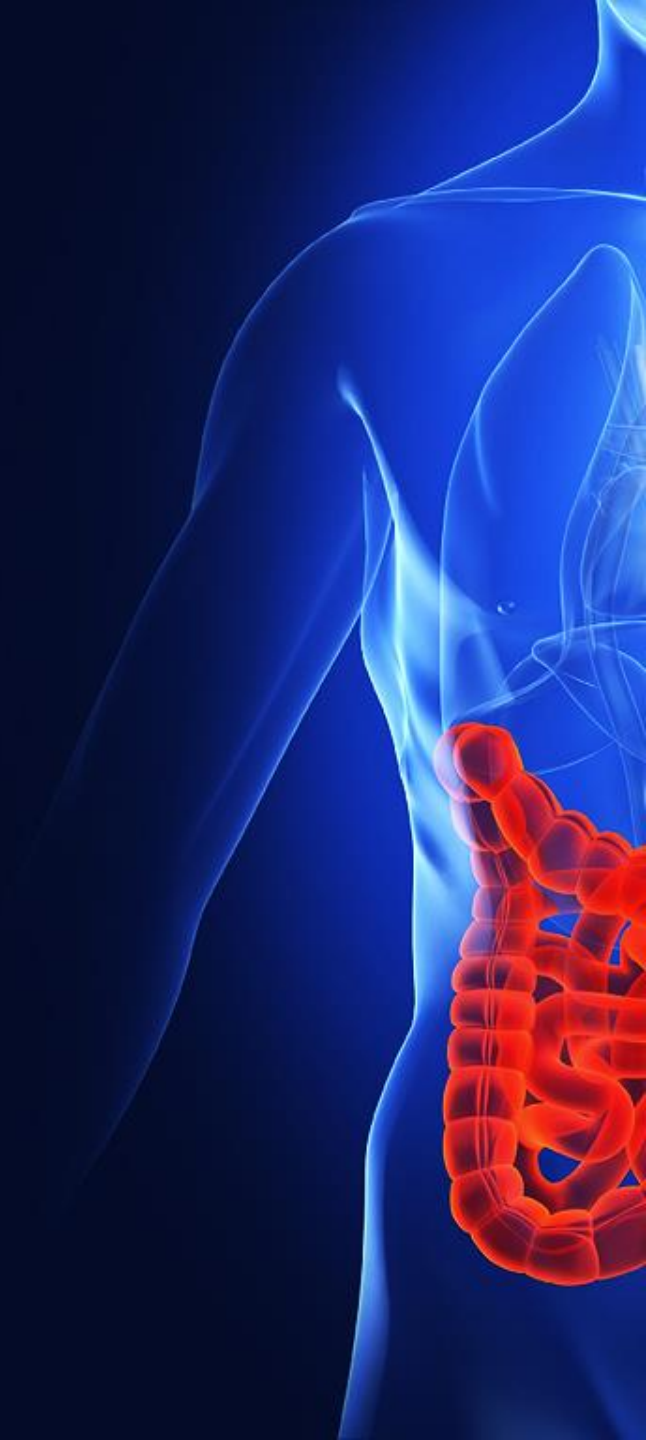
Fattori intestinali e dolore vulvare

Perché il dolore vulvare spesso si ripresenta o riacutizza **dopo episodi di diarrea o dopo l'utilizzo di antibiotici?**

Uno dei più potenti fattori scatenanti dell'iperattività del mastocita, a livello non solo locale ma anche sistemico, sembra essere **l'alterazione dell'ecosistema intestinale** (microbiota).

Quando l'intestino, organo immunocompetente leader del nostro organismo, si infiamma, come succede ad esempio durante un attacco di IBS, di diarrea, o durante una infezione, **"entra in guerra" tutto il sistema di difesa non solo intestinale ma dell'intero organismo.** Il mastocita reagisce liberando migliaia di molecole dell'infiammazione, che circolano in tutto il corpo e possono causare sintomi (dolore, bruciore, gonfiore) anche a distanza, **riattivando l'infiammazione "dormiente" a livello degli organi genitali.** Si osservano quindi una ricomparsa e una cronicizzazione anche del **dolore vulvare** (Landry e Martinov 2017).

La risposta infiammatoria, inoltre, coinvolge direttamente anche la parete intestinale che diventa molto più permeabile, permettendo il libero passaggio di allergeni alimentari e germi patogeni dal lume intestinale al circolo ematico e linfatico.



Questo fenomeno, meglio conosciuto come **leaky gut syndrome** (sindrome dell'intestino poroso) è alla base di risposte di intolleranza e/o allergia e di infezioni sistemiche che possono essere anche molto gravi (Lindheim et al, 2017) e che, comunque, sostengono e potenziano l'infiammazione (e con essa la vulvodinia) in atto. Anche **le fluttuazioni ormonali estrogeniche**, soprattutto in fase premestruale, possono indurre un notevole **aumento della permeabilità intestinale** (Chen e Madak-Erdogan 2016) e il **peggioramento dei sintomi pelvici e vulvari.**

Punto chiave: curare bene l'intestino, anche nella sua ciclica vulnerabilità premestruale, è parte integrante e fondamentale della terapia del dolore genitale, del dolore pelvico cronico e della vulvodinia.

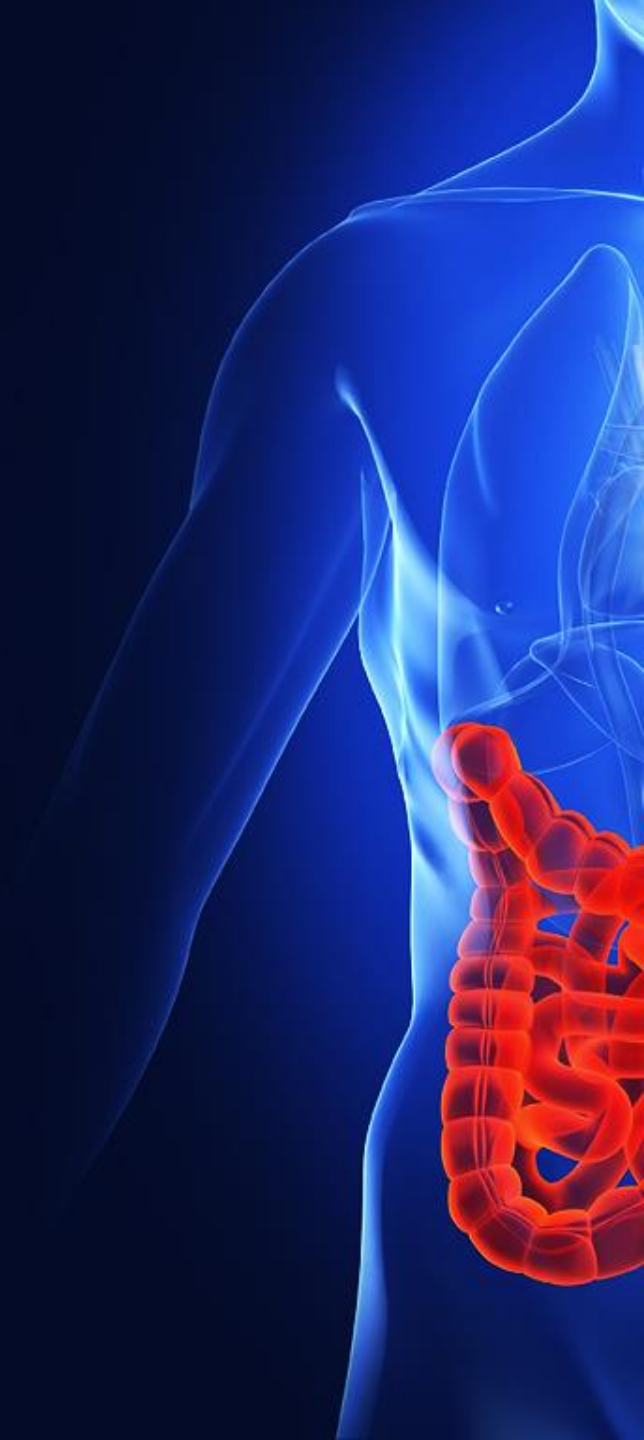
Microbiota intestinale: ruolo dell'Escherichia coli di Nissle

Attività particolarmente ben documentate le abbiamo per **Escherichia coli Nissle 1917**, un probiotico strategicamente utile in quanto capace di modulare il microbiota intestinale (Scaldaferri et al, 2017) e svolgere specifiche azioni.

<u>Azione antimicrobica diretta</u>

Nonostante questo batterio appartenga alla pericolosa famiglia degli Escherichia coli, responsabili della maggior parte delle infezioni sia gastrointestinali che delle vie urinarie, E. coli Nissle non soltanto non è patogeno, ma è l'unico probiotico capace di contrastare direttamente ed efficacemente la proliferazione intestinale di E. coli patogeni e anche di altri germi (Klebsiella, Proteus, Staphylococcus) responsabili delle cistiti ricorrenti (Mohsin et al, 2015).

E.coli Nissle, infatti, colonizza "prepotentemente" il colon, competendo con loro per i nutrienti e la colonizzazione della mucosa, e svolgendo un'azione battericida selettiva tramite produzione e rilascio di microcine.



E.coli Nissle, inoltre, è capace di "tenere a bada" la proliferazione intestinale della Candida (effetto micostatico). La sua azione antibiotica naturale permette di eradicare la fonte di germi patogeni, eliminando le infezioni ripetute.

Rinforzo della funzione di barriera della mucosa intestinale

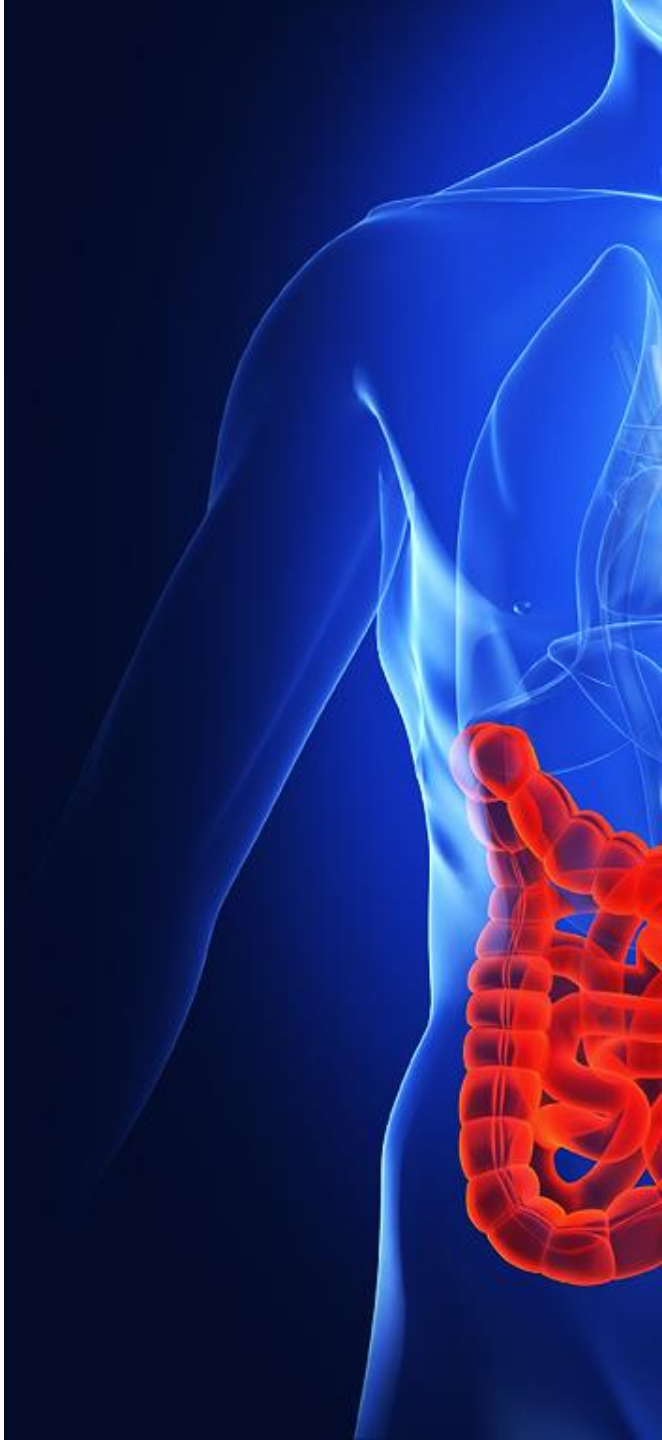
Grazie al dialogo biunivoco con le cellule della mucosa intestinale (cross-talk) E. coli Nissle stimola l'espressione delle proteine delle tight junction, riducendo la permeabilità intestinale, anche in presenza di stimoli infiammatori (TNFα , INFγ) (Barbara et al, 2016): un'azione di eccellente efficacia biologica, che va a ridurre la leaky gut sydrome, bloccando la via al passaggio sia di batteri (responsabili di infezioni anche sistemiche), sia di tossine e allergeni, che sostengono e cronicizzano il processo infiammatorio (Alvarez et al, 2016).

Proprietà immunomodulanti

E.coli Nissle stimola il rilascio di citochine antinfiammatorie (IL-10) e riduce la liberazione di citochine pro-infiammatorie (IL-2, TNFα, INFγ, IL-8). Questo gli consente di funzionare da potente **antinfiammatorio naturale**, efficace ma privo di effetti collaterali, tanto da essere equiparato alla mesalazina nella terapia di mantenimento della remissione nella colite ulcerosa (Losurdo et al, 2015).

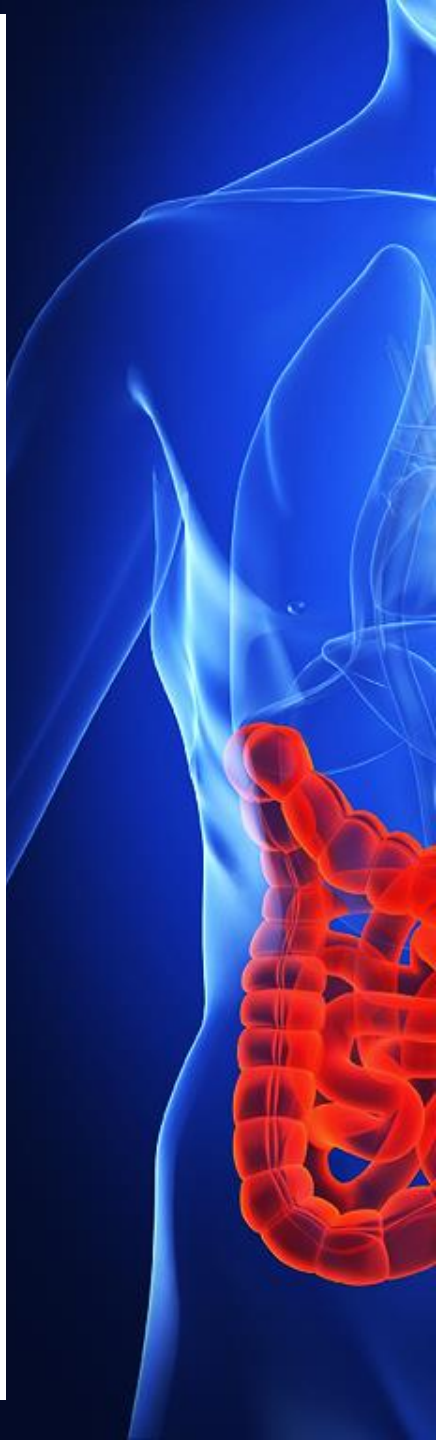
Formazione di biofilm protettivi

E.coli Nissle presenta una spiccata capacità di formare biofilm rispettosi dell'integrità della mucosa del colon. Protegge così efficacemente lo strato mucoso dei colonociti, migliora ulteriormente l'integrità delle tight junction e destruttura i biofilm formati dai germi patogeni, esponendoli alle difese immunitarie e agli antibiotici (Quan Chen et al, 2017).



Bibliografia

- Akopians AL, Rapkin AJ. Vulvodynia: The Role of Inflammation in the Etiology of Localized Provoked Pain of the Vulvar Vestibule (Vestibulodynia). Semin Reprod Med. 2015 Jul; 33(4):239-45
- Alvarez CS, Badia J, Bosch M, Giménez R, Baldomà L. Outer Membrane Vesicles and Soluble Factors Released by Probiotic Escherichia coli Nissle 1917 and Commensal ECOR63 Enhance Barrier Function by Regulating Expression of Tight Junction Proteins in Intestinal Epithelial Cells. Front Microbiol. 2016 Dec 15;7:1981.
- Barbara G, Stanghellini V, Barbaro MR, Dino P, Carapelle M, Cremon C. Escherichia coli Nissle 1917 Reinforces Intestinal Epithelial Barrier and Prevents Permeability Alterations Induced by Cytokines and PAR-2 Activation: An In Vitro Study. Gastroenterology, Vol. 150, Issue 4, S498; Poster presentation DDW Congress 2016
- Chen KL, Madak-Erdogan Z. Estrogen and Microbiota Crosstalk: Should We Pay Attention? Trends Endocrinol Metab. 2016 Nov; 27(11):752-755.
- Graziottin A, Skaper SD, Fusco M. Mast cells in chronic inflammation, pelvic pain and depression in women. Gynecol Endocrinol. 2014 Jul;30(7):472-7
- Keppel Hesselink JM, Kopsky DJ, Sajben N. 2016 New topical treatment of vulvodynia based on the pathogenetic role of cross talk between nociceptors, immunocompetent cells, and epithelial cells. J Pain Res. 2016 Oct 3; 9:757-762. eCollection 2016.
- Landry J, Martinov T. Repeated hapten exposure induces persistent tactile sensitivity in mice modeling localized provoked vulvodynia. PLoS One. 2017 Feb 3; 12(2)
- Lindheim L, Bashir M et al. Alterations in Gut Microbiome Composition and Barrier Function Are Associated with Reproductive and Metabolic Defects in Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): A Pilot Study. PLoS One. 2017 Jan 3;12(1):e0168390.
- Losurdo G, Iannone A, Contaldo A, Ierardi E, Di Leo A, Principi M. Escherichia coli Nissle 1917 in Ulcerative Colitis Treatment: Systematic Review and Meta-analysis. J Gastrointestin Liver Dis. 2015 Dec;24(4):499-505.
- Mohsin M, Guenther S, Schierack P, Tedin K, Wieler LH. Probiotic Escherichia coli Nissle 1917 reduces growth, Shiga toxin expression, release and thus cytotoxicity of enterohemorrhagic Escherichia coli. Int J Med Microbiol. 2015 Jan;305(1):20-6.
- Quan Chen, Lijuan Zhang et al. Probiotic E. Coli Nissle 1917 biofilms on silicone substrates for bacterial interference against pathogen colonization. Acta Biomater 2017 Mar 1;50:353-360
- Scaldaferri F, Gasbarrini A et al. P115 Escherichia coli Nissle 1917 modulate gut microbiota composition in ulcerative colitis patients Poster presentation: Basic Science; ECCO Congress 2017



Alfa-lattoalbumina

l'alfa-lattoalbumina, è una sieroproteina del latte materno, del quale rappresenta un fattore nutritizio fondamentale.

Le sieroproteine costituiscono un alimento eccezionale:

- sono la principale fonte naturale conosciuta di amminoacidi ramificati,
- permettono un nutrimento immediato,
- sono complete di tutti gli amminoacidi essenziali,
- consentono un efficace controllo della massa corporea.

Le più importanti caratteristiche della alfa-lattoalbumina sono la tollerabilità, la digeribilità, la solubilità, l'elevato potere nutritivo, la massima biodisponibilità.

A differenza di tutte le altre proteine che precipitano nell'ambiente acido dello stomaco, l'alfa-lattoalbumina transita velocemente attraverso il tratto gastrico. Arriva nell'intestino completamente demolita a peptidi che passano liberamente la membrana intestinale. Nel sangue continua la sua demolizione fino ad ammino acidi liberi (non in forma proteica).

L'assunzione di proteine produce un aumento del livello plasmatico di ammino acidi liberi superiore rispetto all'assunzione degli stessi. In particolare, tra le proteine, le sieroproteine producono il maggior aumento dei livelli plasmatici, in quanto non precipitano nell'ambiente acido dello stomaco.

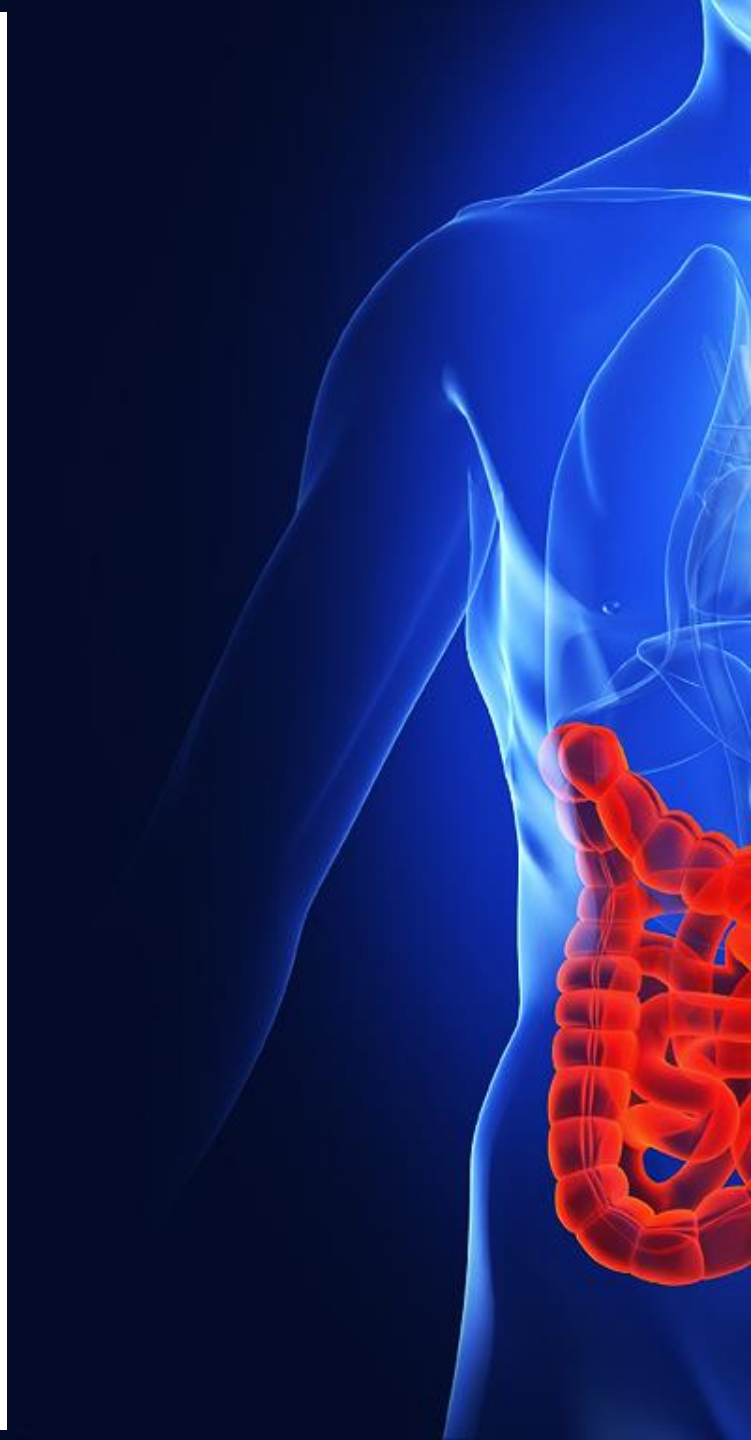
Caratteristica peculiare dell'alfa-lattoalbumina è la sua composizione amminoacidica, particolarmente ricca di triptofano e povera del gruppo di ammino acidi che competono per la sua captazione (dal sangue al cervello) cerebrale, i large neutral amino acids (LNAAs: tirosina, valina, metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina e triptofano).

Tutte le proteine della nostra dieta sono povere in triptofano e ricche dei competitori LNAAs, mentre l'alfa-lattoalbumina contiene il 4.8% di triptofano vs. l'1.1% della caseina.

L'alfa-lattoalbumina, assunta oralmente, aumenta anche del 50% il rapporto plasmatico trp/LNAAs.

Da questo rapporto dipende la quantità di triptofano captato dal cervello e da questa quantità dipende la sintesi cerebrale della serotonina (Chugani lo dimostra con la PET):

Tale dato è stato recentemente dimostrato sperimentalmente da Choi e Fernstrom (1): dopo 9 giorni di ripetute somministrazioni orali si ha un aumento significativo della sintesi di serotonina.



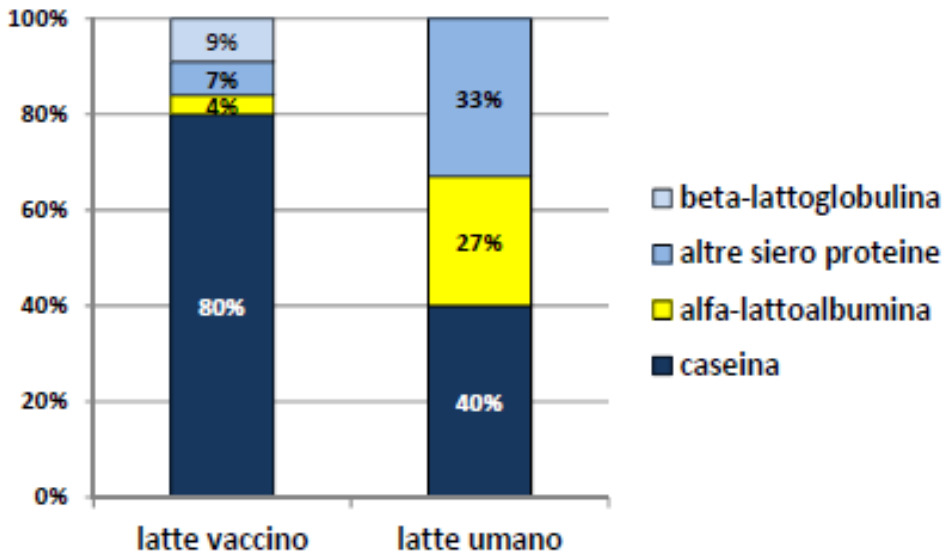
Al momento della nascita l'intestino, anche se è completamente formato, non ha mai funzionato. La sua membrana è completamente priva di flora batterica ed è completamente permeabile: intere proteine possono passare dal lume intestinale al torrente circolatorio.

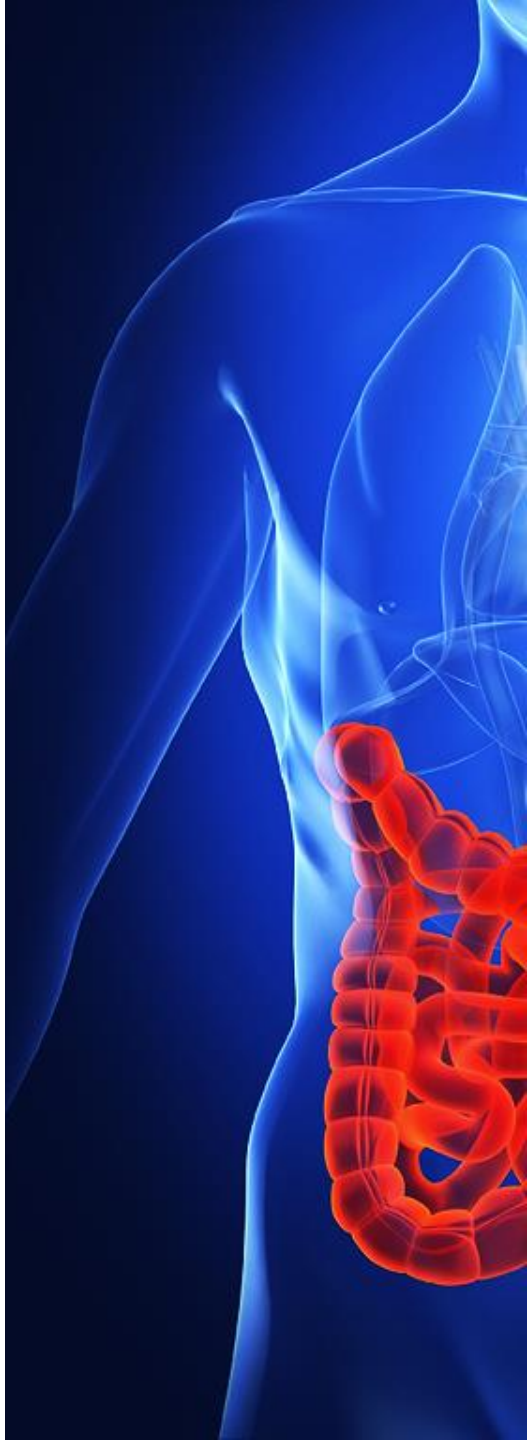
L'alfa—lattoalbumina, che rappresenta il 40% delle proteine del colostro ha il compito di attivare i processi assorbitivi/difensivi dell'intestino. In 15-20 giorni riduce la permeabilità intestinale, consentendo solo a piccoli peptidi, provenienti dalla demolizione enzimatica delle proteine, l'accesso al sangue.

L'alfa-lattoalbumina controlla l'instaurazione di una corretta flora intestinale, impedendo alla flora disbiotica di attecchire.

Grazie a queste sue azioni a livello intestinale controlla l'arrivo al cervello di importanti neurotrasmettitori o di ammino acidi che ne sono i precursori, inoltre controlla la sintesi di importanti neuropeptidi con azione di controllo cerebrale.

Pertanto l'alfa-lattoalbumina è la molecola che modula lo sviluppo del cervello, organo che maggiormente ci differenzia dagli altri animali, per questo il nostro latte ne è particolarmente ricco.





ALAC nell'intestino

1) **Permeabilità:** al momento della nascita l'intestino è completamente permeabile, intere proteine possono passare dal lume intestinale al torrente circolatorio. In 7-10 giorni di allattamento, l'alfa-lattoalbumina contenuta nel latte umano (nel colostro rappresenta il 40% delle proteine) riduce la permeabilità (1) e attiva i processi difensivi/assorbitivi.

2) **Azione gastroprotettiva:** l'azione protettiva delle sieroproteine sulla mucosa gastrica sono note da tempo, ma la responsabile di questa azione è unicamente l'alfa-lattoalbumina (2). L'alfa-lattoalbumina è in grado di proteggere lo stomaco da ulcere prodotte da stress o alcool (3), in maniera dose dipendente (fig.1).

3) **Prostaglandine:** E' stato dimostrato che l'azione dell'alfa-lattoalbumina è mediata dalle prostaglandine, risulta infatti che l'alfa-lattoalbumina è in grado di stimolare la sintesi di prostaglandine (PGE2) (fig.4) (4).

4) **Muco e succhi gastrici**: All'aumento di prostaglandine corrisponde un'aumentata secrezione di muco. Il muco ha un'azione protettiva della membrana intestinale in quanto trattiene gli ioni bicarbonato che in questo modo neutralizzano gli idrogenioni che diffondono nello strato gelatinoso. L'alfa-lattoalbumina è sia in grado di aumentare il muco che i succhi gastrici (fig 5 e 6), in questo modo è in grado di controllare il pH (tab 1).

5) **Svuotamento gastrico:** un aumento delle contrazioni gastriche costituisce il maggior meccanismo patogenetico alla formazione di ulcere indotte da agenti necrotizzanti o da stress. L'alfa-lattoalbumina rallenta in modo significativo lo svuotamento gastrico, indice di un rallentamento nelle contrazioni gastriche.

6) **Attività antibatterica:** dalla demolizione enzimatica dell'alfa-lattoalbumina sono stati isolati peptidi con azione antibatterica intestinale (5).

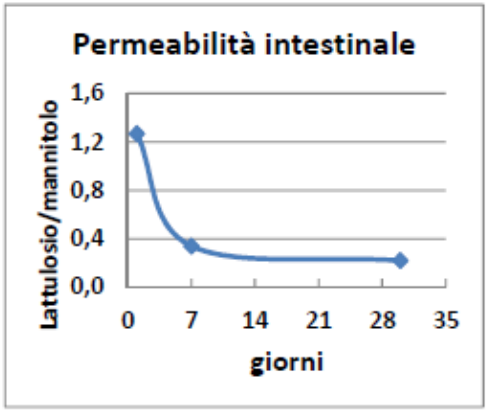


Fig.1

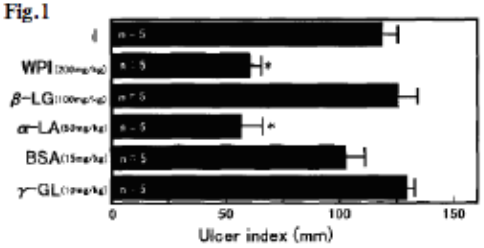


Fig.4

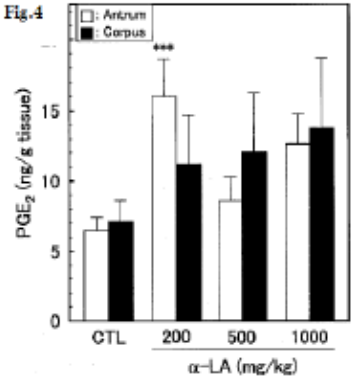


Table 1. Effects of α-LA on Gastric Luminal pH

Group	IND	Animals	pH[a]	
CTL	−	6	1.9 ± 0.2	NS
	+	6	2.4 ± 0.3	
α-LA 200 mg/kg	−	6	3.6 ± 0.2****	NS
	+	6	3.7 ± 0.3****	
α-LA 500 mg/kg	−	6	4.5 ± 0.1****	NS
	+	6	4.2 ± 0.1****	
α-LA 1000 mg/kg	−	6	5.2 ± 0.2****	NS
	+	6	5.2 ± 0.2****	

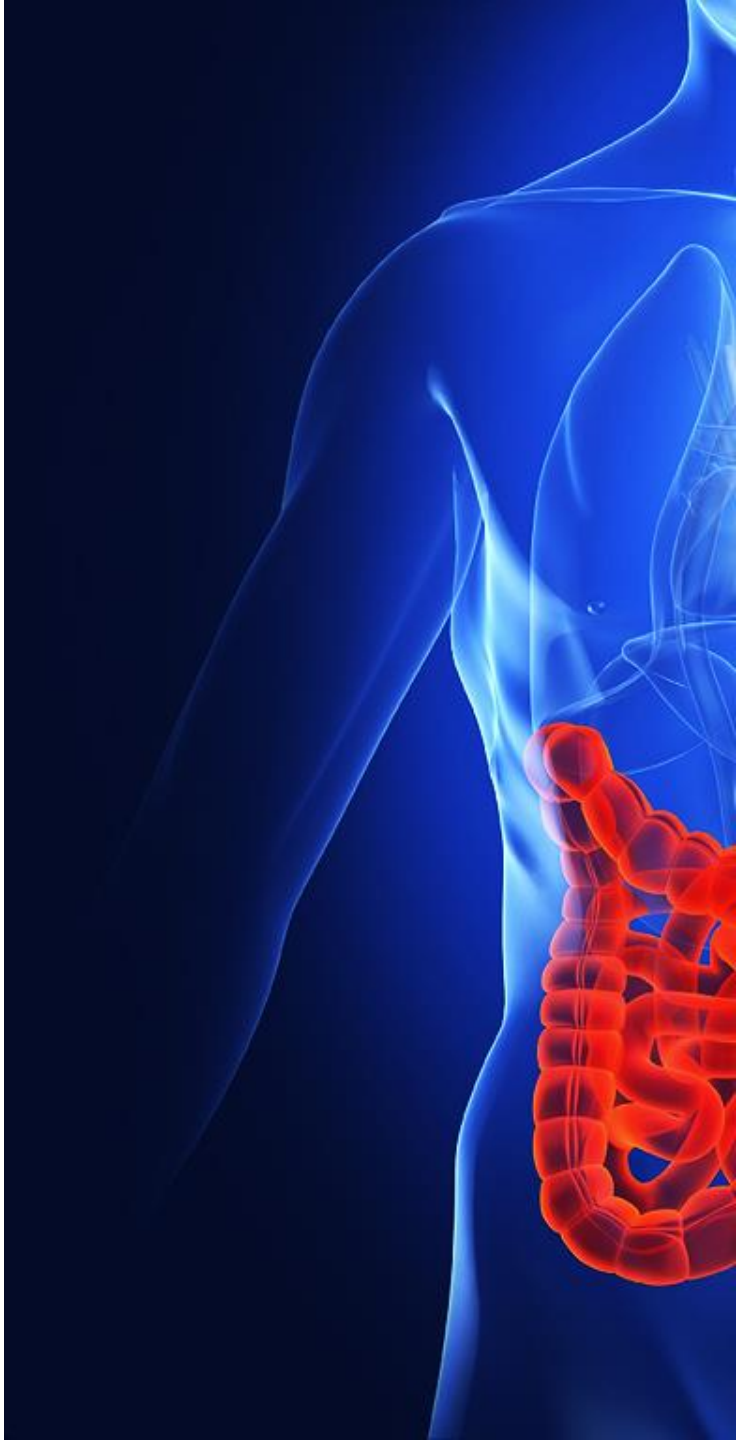
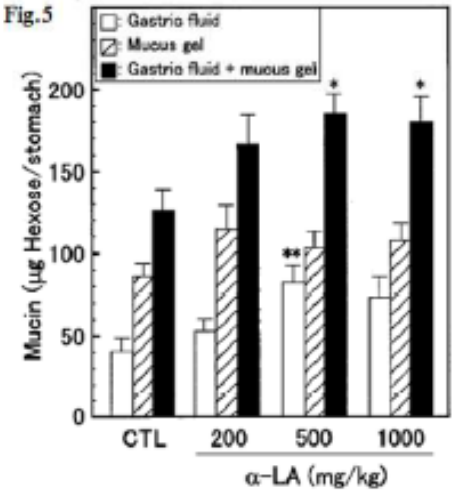
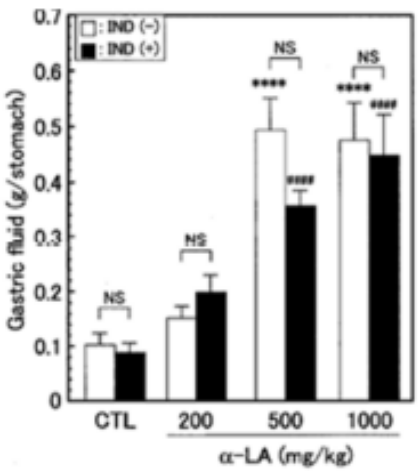


Fig.5

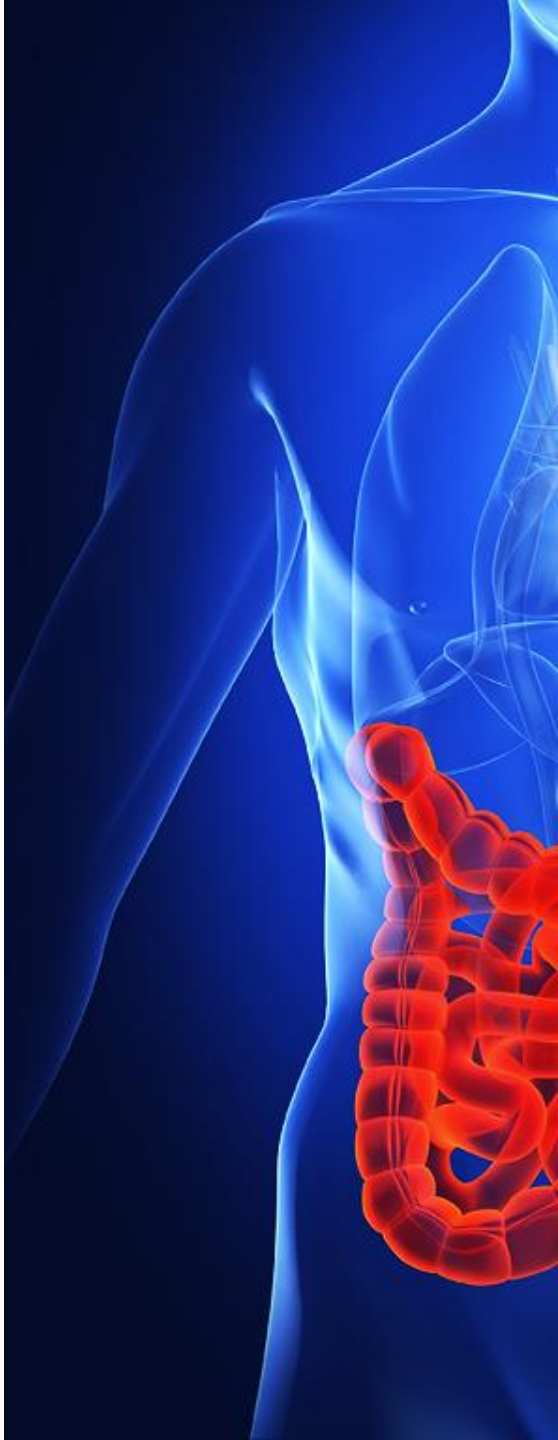




L'alfa-lattoalbumina è, pertanto, un prebiotico intestinale in grado di ripristinare corretti processi assorbitivi, spesso logorati da diete prive di fibra, farmaci, additivi alimentari e non per ultimo stress.

Riferimenti

1) Choi S, Disilvio B, Fernstrom MH, Fernstrom JD. The chronic ingestion of diets containing different proteins produces marked variations in brain tryptophan levels and serotonin synthesis in the rat. Neurochem Res. 2011 Mar;36(3):559-65
2) Catassi, C.; Bonucci, A.; Coppa, G. V.; Carlucci, A.; Giorgi, P. L . Intestinal Permeability. Changes during the First Month: Effect of Natural versus Artificial Feeding. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, November 1995,21(4):383-386
3) Matsumoto e al. Gastroprotection by alpha-lactalbumin. Biosci. Biotechenol. Biochem. 65 (5) 1104-1111,2001
4) Hushida S. et al. Effects of Bovine Alpha-lactalbumin on Gastric defense mechanism in naïve rats. Biosci.Biotechnol. Biochem. 67 (3), 577-583, 2003
5) Pellegrini A, Thomas U, Bramaz N, Hunziker P, von Fellenberg R. Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine alpha-lactalbumin molecule. Biochim Biophys Acta. 1999 Feb 2;1426(3):439-48.

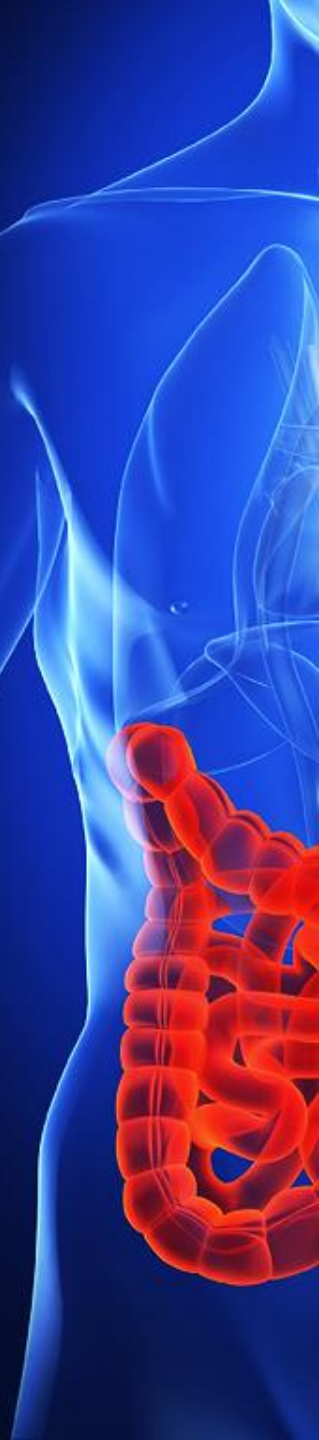


Vit. D e interazione con il microbiota intestinale

Recentemente si è concentrata l'attenzione sugli effetti della **vitamina D3** sulle caratteristiche batteriche intestinali. Del totale dei 12 differenti phyla identificati:

- *Firmicutes* e *Bacteroidetes* hanno rappresentato il 95% di tutta la popolazione batterica nel pre-intervento con, nel dettaglio, un'abbondanza relativa di *Firmicutes* del 55,86% e *Bacteroidetes* del 40,70%. Seguono *Actinobacteria* (2,00%), *Proteobacteria* (1,15%) e *Verrucomicrobia* (0,21%)
- in seguito al supplemento, l'abbondanza relativa media di *Firmicutes* è diminuita al 50,57% con un parallelo aumento di quella di *Bacteroidetes* a 43,62%. Il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes* è quindi passato da 0,818 ± 0,048 a 0,954 ± 0,061. Aumento anche dei phyla minori come *Actinobacteria* (pre-1,9% *vs* post-3,1%) e *Verrucomicrobia* (pre-0,19% *vs* post-0,95%)
- a livello di genere, nel post-intervento si è registrata una crescita significativa di *Bifidobacterium* (*Actinobacteria* in particolare) e *Akkermansia* (nei soli membri di *Verrucomicrobia*). Diminuzione invece per diversi generi del core *Firmicutes* quali *Roseburia*, *Ruminococcus*, e *Faecalibacterium*
- membri del phylum *Bacteroidetes* hanno mostrato un accrescimento di abbondanza relativa (*Bacteroides*, *Alistipes* e *Parabacteroides*), altri un decremento (*Prevotella*)
- differenza significativa in termini di alpha e beta-diversity tra i due gruppi.

L'inter-variabilità gioca però un ruolo importante nel determinare la risposta a un trattamento. I ricercatori hanno quindi valutato l'efficacia del supplemento con le caratteristiche del microbioma dei rispondenti e non (valori di 25(OH)D ancora sotto i 20 ng/ml) dimostrando alterazioni nella composizione e diversità batteriche generali, ma peculiari in base al gruppo di appartenenza.



In particolare:

✓ nel gruppo dei rispondenti, il supplemento ha mostrato un aumento di *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* e *Leptosphaeria* accoppiato a una diminuzione di *Firmicutes*

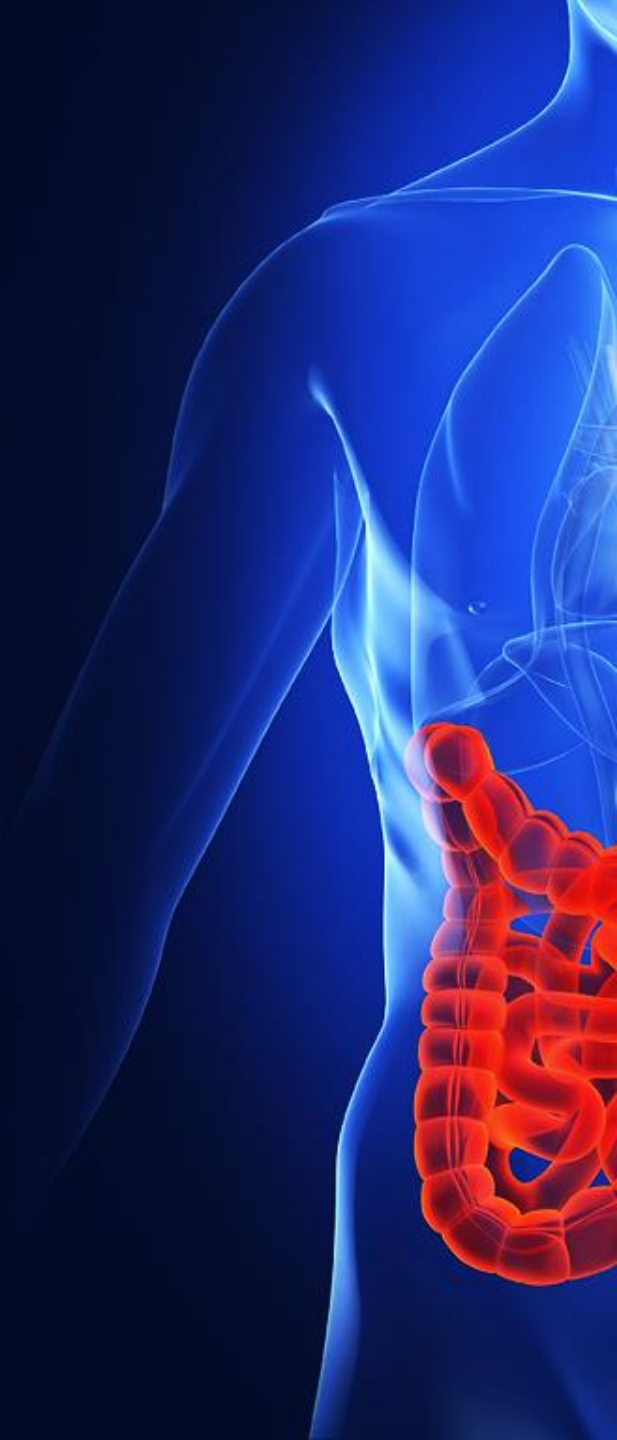
✓ nei non-responders invece, nel post-intervento si è registrato un aumento di *Proteobacteria*

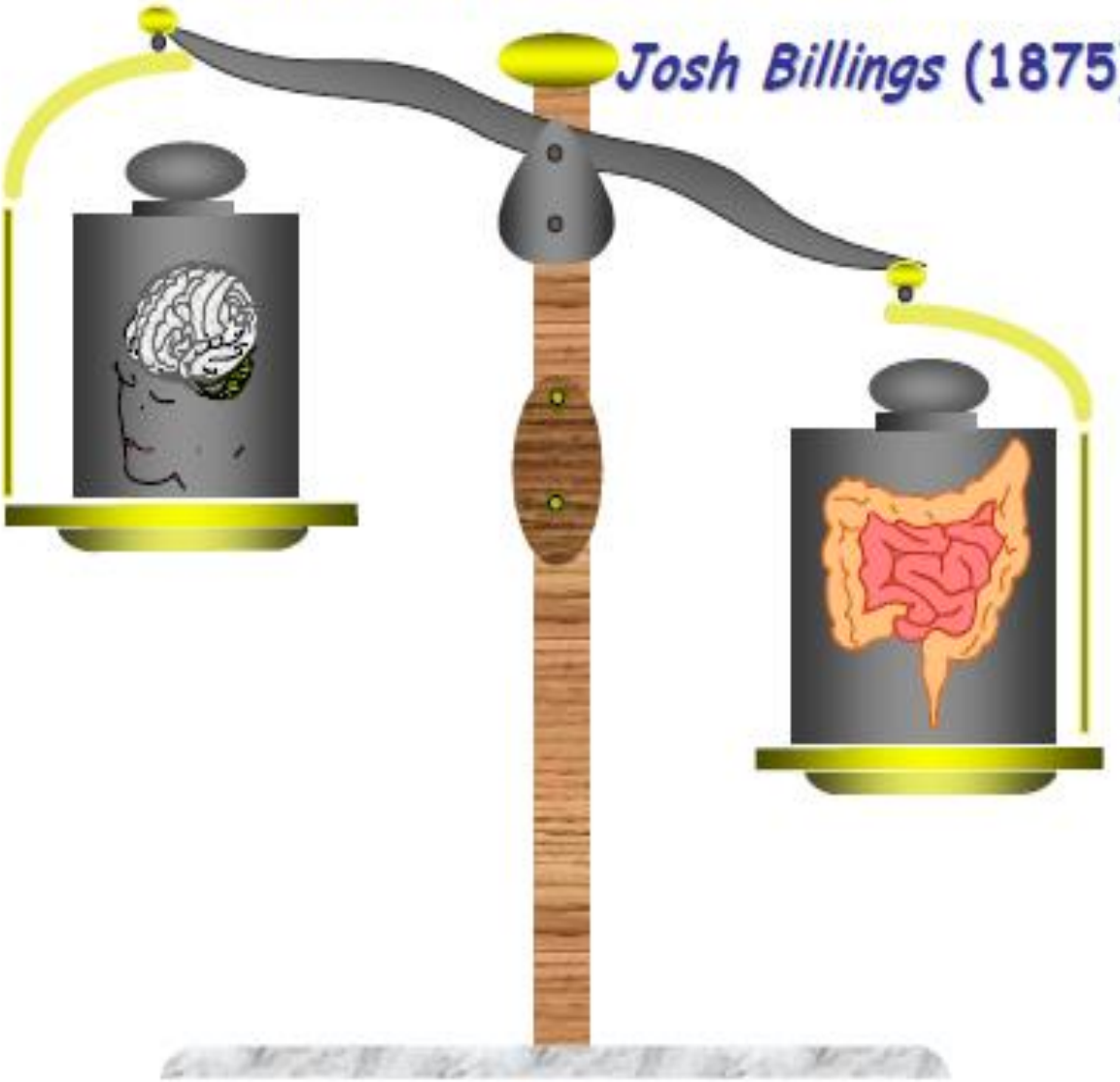
✓ più elevato l'aumento del rapporto B/F nei rispondenti

✓ a livello di specie, espressione significativamente maggiore nei rispondenti per *Bacteroides acidifaciens*, *Ruminococcus bromii*, *Bacteroides eggerthii*, *Barnesiella intestinihominis* sia nel pre- sia nel post-intervento

✓ marcata anche la deplezione di *B. acidifaciens* rispetto ad altre specie nei non-rispondenti suggerendo come *suoi bassi livelli possano indicare una bassa risposta al supplemento di vitamina D*

✓ ***entrambi i gruppi hanno registrato un aumento di alpha diversity nel post-intervento***



"Alla fine sono giunto alla conclusioneche un buon intestino è molto più utile per l'uomo di qualsiasi cervello"

Josh Billings (1875)