

# ***MICROBIOTA INTESTINALE e PROFILO CARDIOVASCOLARE***



*Dott.ssa Carla Bassi  
Casa di Cura Polispecialistica  
"Villa Verde" di Reggio Emilia  
24 marzo 2018*

**La letteratura suggerisce un link fra microbiota e  
pat. metaboliche e degenerative**

**TUTTAVIA**

**i meccanismi che influenzano lo  
stato metabolico sono complessi e i  
dati, a volte contraddittori,  
necessitano di ulteriori studi**

**Non è sempre chiaro se la disbiosi è la causa/concausa o la  
conseguenza delle patologie a cui si associa.**

# OBESITA'



- E' una malattia cronica ad **eziologia multifattoriale** con **introito e dispendio energetico sbilanciati**
- L'omeostasi energetica coinvolge intestino, fegato , muscolo, S. nervoso, S. immunitario, S. endocrino-metabolico.
- Il microbiota intestinale influenza l'assorbimento dei nutrienti e l'immagazzinamento dell'energia: **la disbiosi può alterare l'omeostasi energetica**

# L'OBESITA' si associa a :

- **Infiammazione cronica di basso grado** (LPS,TNF alfa) con aumento permeabilità della barriera intestinale ed endotossiemia metabolica  
*( P.D.Cani et al, Diabetes 2007 )*  
*( V.Gerardi, A. Gasbarrini et al, G Ital Cardiol 2016 )*
- **Aumentata attività del sistema endocannabinoide con maggiore permeabilità intestinale e iperfagia**  
*(PD Cani et al, GUT 2009)*  
*(L Geurts et al, Frontiers in Microbiology 2011)*
- **Modificazione del microbiota intestinale con**
  - calo dei Bacteroidetes del 50% e dei bifidobatteri
  - incremento di Firmicutes ( soprattutto Mollicutes)
  - incremento degli Archea metanogeni
  - marcata diminuzione delle diversità
  - conseguente alterazione del potenziale metabolico ( + estrazione, + assorbimento, + risparmio energetico)*(Tilg et al, Gastroenterol 2009 )*

# L'alterata composizione del microbiota nell'infanzia può essere predittiva di sovrappeso/obesità nell'adulto

*Am J Clin Nutr* 2008;87:534–8.

Original Research Communications

Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight<sup>1–3</sup>

Marko Kalliomäki, Maria Carmen Collado, Seppo Salminen, and Erika Isolauri

**Results:** The bifidobacterial numbers in fecal samples during infancy, as assessed by the FISH with flow cytometry, were higher in children remaining normal weight, [median:  $2.19 \times 10^9$  cells/g (interquartile range:  $1.10\text{--}5.28 \times 10^9$  cells/g)] than in children becoming overweight [ $1.20 \times 10^9$  cells/g ( $0.48\text{--}1.59 \times 10^9$  cells/g);  $P = 0.02$ ]. A similar tendency was found by FISH with microscopic detection and qRT-PCR. The microbiota aberrancy during infancy in children becoming overweight was also associated with a greater number of *Staphylococcus aureus* [ $0.64 \times 10^6$  cells/g ( $0.33\text{--}1.00 \times 10^6$  cells/g)] than in children remaining normal weight [ $0.27 \times 10^6$  cells/g ( $0.17\text{--}0.50 \times 10^6$  cells/g);  $P = 0.013$ ].

# Il fenotipo obeso è trasmissibile

Topi germ-free , alimentati con la stessa dieta per due settimane ,

**colonizzati da flora batterica di topi obesi sono aumentati di peso + 60%**

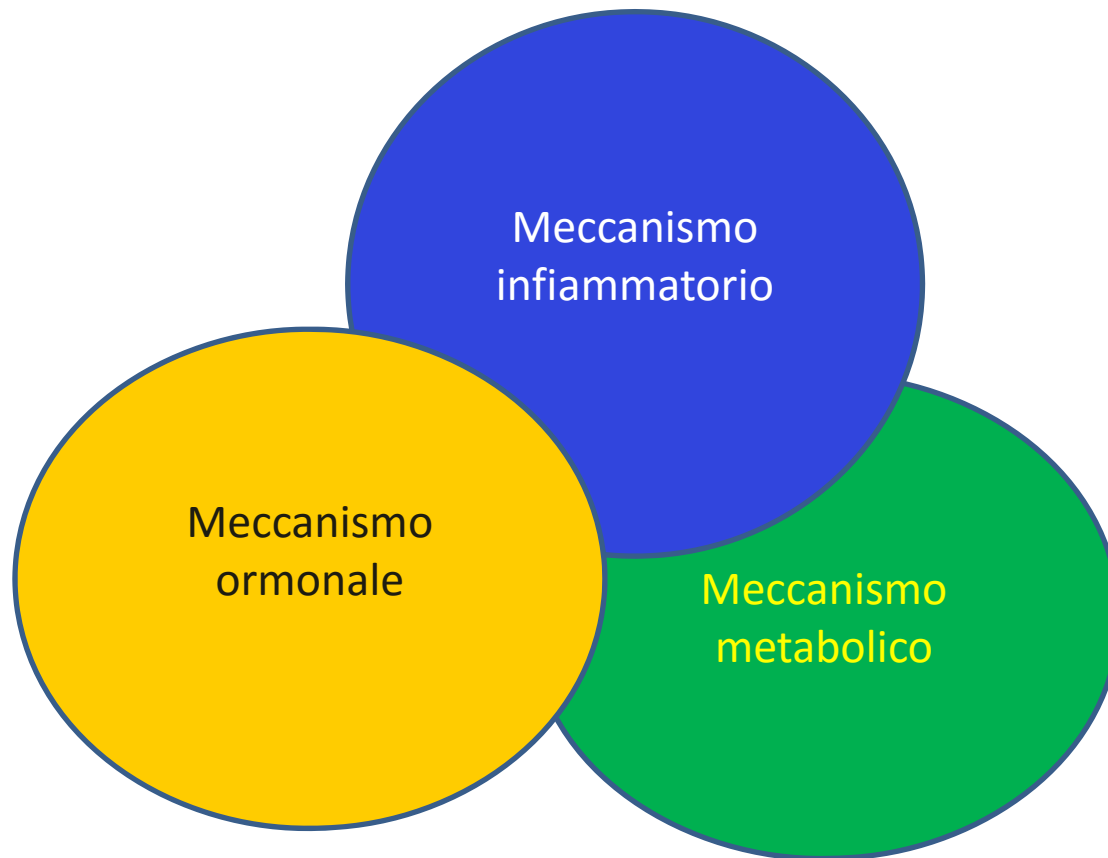
rispetto a topi colonizzati da flora batterica di topi normopeso

*( Backhed F et al, Proc Natl Acad Sci USA 2004)*

*(Turnbaugh PJ et al, Nature 2006)*

*(Tilg H et al, J Clin Invest 2011 )*

# Come il microbiota influenza l'obesità



*MJ Khan et al, Journal  
of obesity 2016*

# Meccanismo infiammatorio

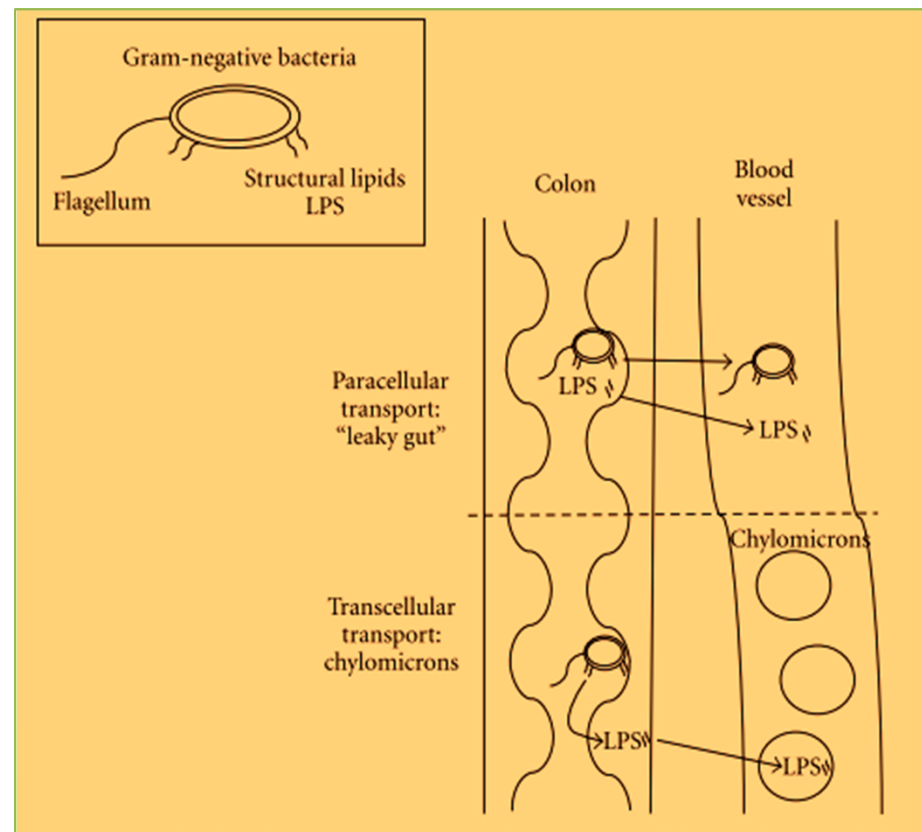
**Interi batteri o componenti batteriche compreso LPS entrano in circolo per via paracellulare o transcellulare**

*(Harris et al, J Obesity 2012)*

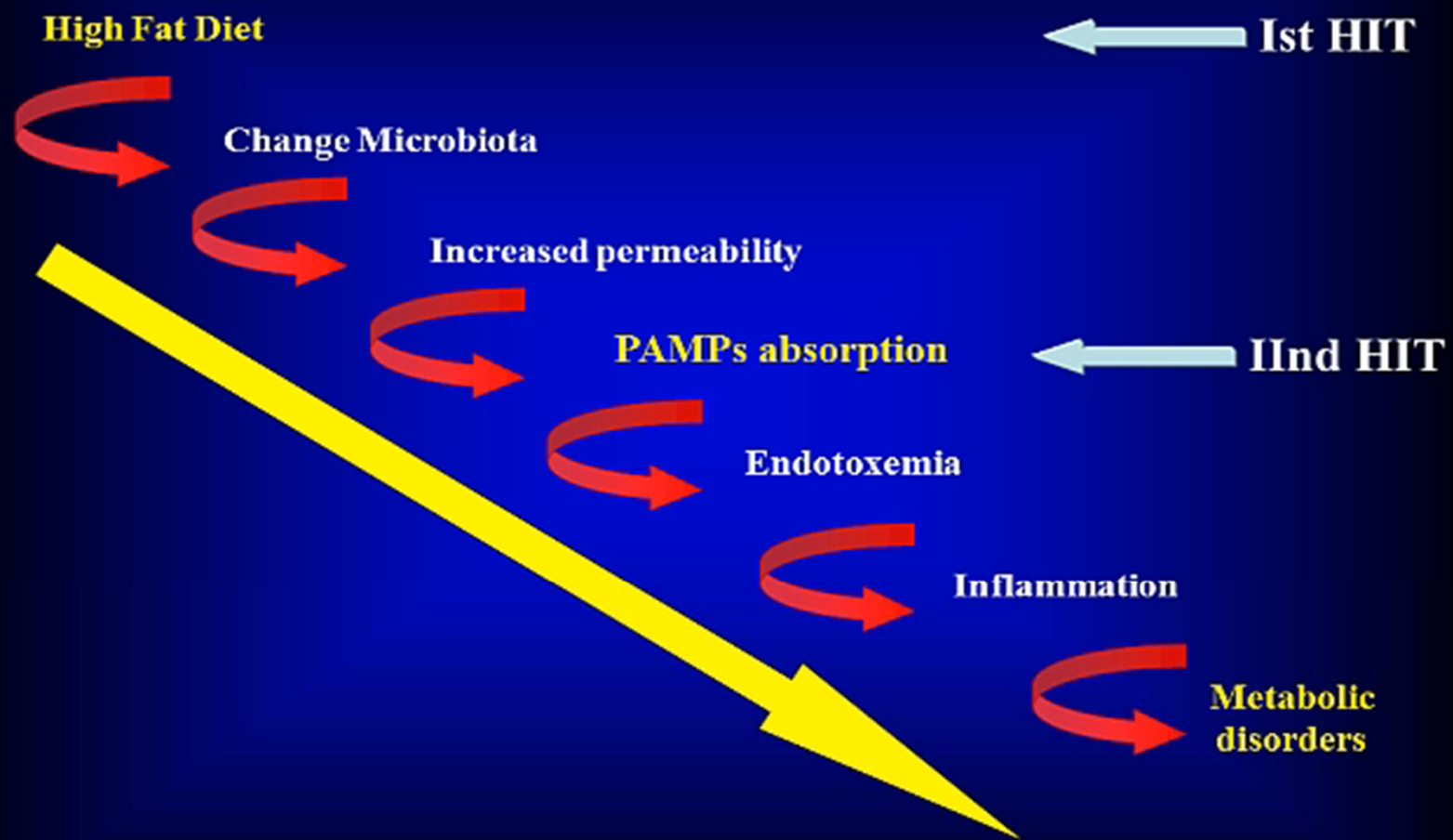
**I LPS attivano la produzione di citochine infiammatorie e determinano endotossiemia metabolica e insulinoresistenza**

*(E. Roda 2015)*

*Le evidenze cliniche oggi disponibili, confermano il ruolo della flogosi nell'iniziazione, progressione e riacutizzazione di diverse malattie cronico degenerative e nell'obesità*



# Hypothesis for bacteria-induced metabolic disease



*Canì, Diabetes 2010*

# Meccanismo metabolico

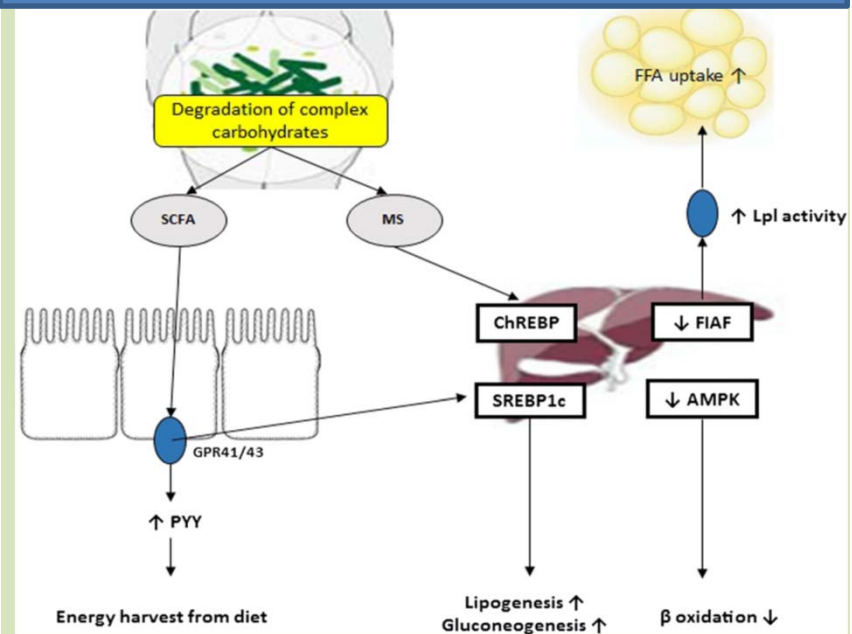
- ↑ Energia derivante da SCFAs
- ↑ Assorbimento del glucosio (+ espressione epatica di ChREBP e SREBP-1, proteine leganti l'elemento responsivo ai carboidrati e agli steroli) e lipogenesi epatica de novo
- ↓ Ossidazione degli acidi grassi nel muscolo e tessuto adiposo
- ↓ Stimolazione dei recettori Farnesoid e deconiugazione acidi biliari

(MJ Khan et al, Journal of obesity 2016)

## RUOLO dei FARNESOID in EUBIOSI

*Il microbiota attiva i FXRs che riducono la sintesi degli acidi biliari e il dosaggio plasmatico di VLDL, colesterolo, trigliceridi e glicemia*

*I FXR (Memb. cellulare epatociti) migliorano la steatosi epatica, la sensibilità all'insulina e modulano l'espressione dei geni coinvolti nel metabolismo. Riducono le citochine infiammatorie e il peso corporeo*



# Ruolo degli SCFAs nell'obesità

## ↑ Accumulo di adipe

- Recuperano il 5-10% della richiesta energetica dai carboidrati indigeribili (*amido resistente, inulina, fruttooligosaccaridi, pectine, gomme, emicellulosa, oligosaccaridi della soia*); il butirrato nutre l'epitelio intestinale; il propionato è utilizzato dagli epatociti per la gluconeogenesi

(MecNeil NI, Am J Clin Nutr 1984)  
(L. Capurso, Recenti prog Med 2016)

- Gli SCFAs partecipano alla lipogenesi epatica de novo attraverso l'espressione di alcuni enzimi chiave come acetilcoarbossilasi e l'acido grasso sintetasi controllati da due fattori nucleari ChREBP e SREBP
- Incremento degli SCFAs nei soggetti obesi rispetto ai magri

(Turnbaugh PJ, Nature 2006) (Li et al. 2013)

*ma non è chiaro se questo dipende da un eccesso di substrati disponibili o da un microbiota che ne favorisce produzione, assorbimento e deposito nel tessuto adiposo e fegato*

(MJ Khan et al, Journal of obesity 2016)

## ↓ Accumulo di adipe

- Proteggono l'integrità della barriera intestinale ed esercitano attività antiinfiammatoria
- Attivano nell'epitelio intestinale i recettori accoppiati alla proteina G (GPR43, GPR41) che stimolano la produzione di GLP1 e PYY.
- Modulano il segnale dell'insulina a livello degli adipociti prevenendo l'accumulo di grasso.
- Il GPR41 è stato trovato anche a livello del sistema nervoso suggerendo che la via di azione è quella del gut-brain axis

(Nutrients 2015)

(Kimura I et al, Nat Commun 2013)

(L. Miele et al, Curr Cardiol Rep 2015)

(Kimura I et al, Proc Natl Acad Sci USA 2011)

# Meccanismo ormonale

- Soppressione del FIAF con aumento dell'attività della lipoproteinlipasi e maggior deposito di grasso negli adipociti

( FIAF= fasting induced adipocyte factor; normalmente inibisce la lipoproteinlipasi e riduce il rilascio degli acidi grassi dai trigliceridi circolanti):

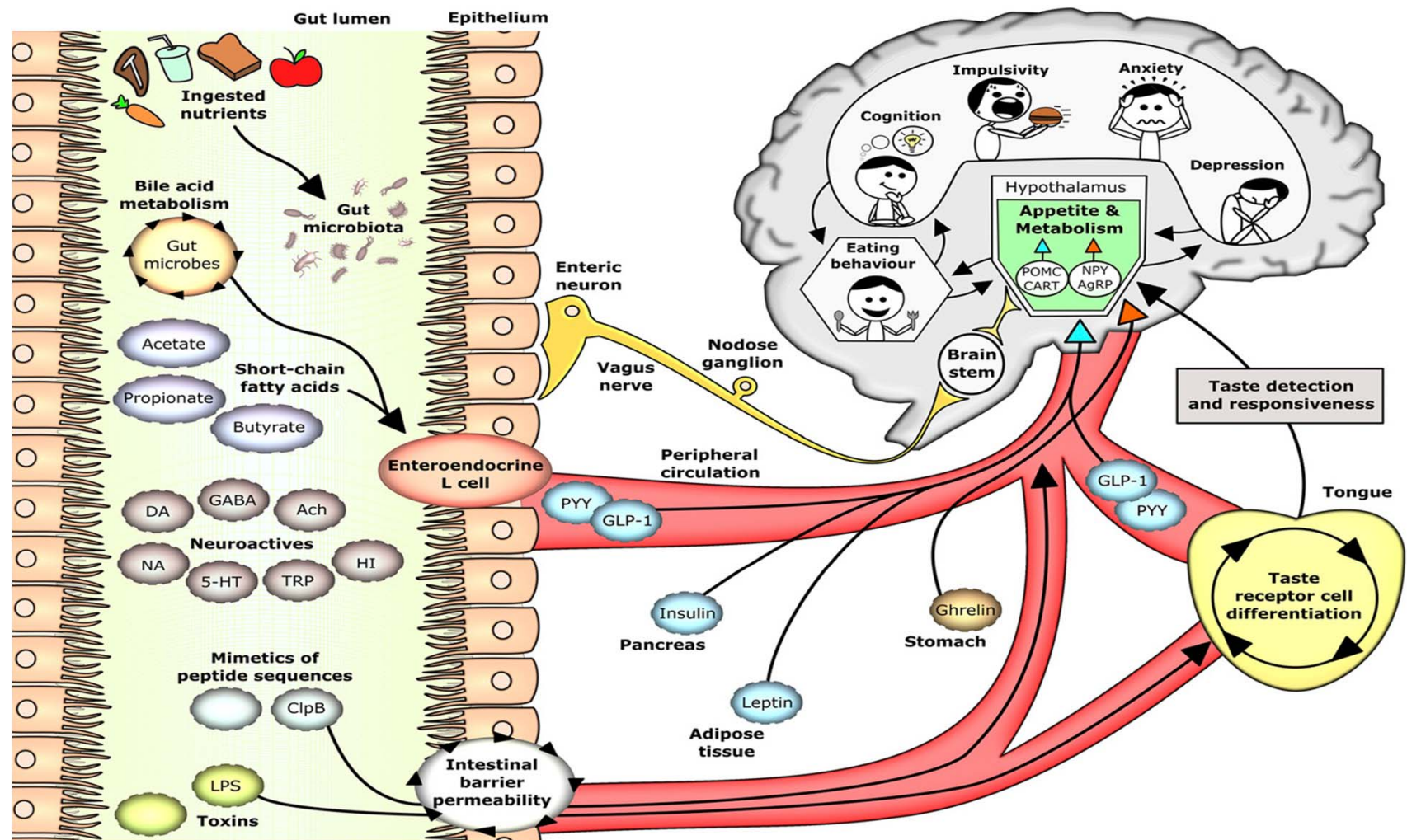
*(F.Backhed et al, Proceeding of de National Academyof Sciencesof the United States of America 2004)*

- Soppressione di AMPk (adenosina monofosfato kinasi) un enzima che serve per l'ossidazione degli ac grassi epatici e muscolari

*(F.Backhed et al, Proceedings of the National Academy of Sciences )*

# Metabolism and gut-brain axis

(M Wouw et al, J nutr 2017)



# Come la DISBIOSI contribuisce alla INSULINORESISTENZA

- INFIAMMAZIONE di BASSO GRADO

LPS →

- incremento della permeabilità intestinale
- passaggio in circolo di sostanze che alterano il normale signaling del recettore insulinico

*(Cani PD et al, Diabetes metab 2014)*

- La RESISTINA prodotta dal tessuto adiposo aumenta la resistenza all'insulina
- Gli SCFAs attivano la gluconeogenesi ( ma complessivamente migliorano l'insulina resistenza)
- Ridotta produzione di butirrato noto per attivare il GPR43 e modulare il segnale dell'insulina nel tessuto adiposo e ridurre la secrezione di glucagone
- **Ridotta stimolazione dei TGR5s** (G protein-coupled receptors che riducono la glicemia e aumentano la spesa energetica promuovendo la conversione del T4 in T3) e **dei FXR** ( che attivati dagli ac. biliari, abbassano glicemia , colesterolo e trigliceridi plasmatici)

*(Prawitt J et al, Diabetes 2011)*

# DIABETE tipo 2° associato a DISBIOSI

- Nei diabetici tipo 2° è documentato:
  - aumento dei Bacteroidetes e diminuzione dei Firmicutes
  - riduzione dei microrganismi produttori di butirrato:
    - ↓ *Roseburia intestinalis*
    - ↓ *Faecalibacterium prausnitzii*
- Il rapporto Firmicutes / Bacteroidetes correla con la tolleranza al glucosio
- La ridotta variabilità del microbiota induce maggiore suscettibilità all'insulino-resistenza

*(Tilg H et al Gut 2014 Sept: 63(9): 1513-21)*

*(Larsen N et al, PLoS One 2010)*

# La modulazione del microbiota può migliorare la sensibilità all'insulina?

- L'uso di yogurt probiotici hanno effetto antiossidante nei diabetici tipo 2°

*(Ejtahed Hset al, Nutrition 2012)*

- L'uso di antibiotici come la norfloxacin e l'ampicillina aumentano la sensibilità all'insulina

*(Membrez M et al, FASEB J 2008)*

- Il trapianto di microbiota da donatori magri aumenta la sensibilità all'insulina in individui con sindrome metabolica

*(Vrieze A et al, Gastroenterology 2012)*

# Diabete tipo 1°

- La disbiosi potrebbe essere un fattore favorente il processo autoimmune che conduce al diabete tipo 1
- **STUDI discordanti riguardo l'alterazione del microbiota:**
  - I topi Nod (diabetici non obesi) hanno una maggior concentrazione di Bacteroidetes; il trattamento antibiotico riduce in essi il diabete dal 75 al 20%
  - incremento dei Firmicutes e calo dei Bacteroidetes e dei proteobacteria; incremento di alcuni geni infiammatori che codificano per TNFalfa , VGFE e citochine ( studio coordinato da L. Piemonti del S. Raffaele MI e pubblicato su Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism)

# Microbiota e metabolismo lipidico

- Il microbiota intestinale ha un ruolo rilevante nel metabolismo lipidico influenzando l'omeostasi del colesterolo e regolando la composizione della bile. Minore diversità microbica intestinale predispone alla dislipidemia  
(A. Piemontesi et al. *Giornale Italiano dell'arteriosclerosi* 2016; 7(4):64-83)
- I Firmicutes e alcuni ceppi di Bacteroides attivano la lipoproteinlipasi e accumulano trigliceridi negli adipociti ; altri ceppi di Bacteroides aumentano invece l'efficienza dell'idrolisi lipidica  
( Lucio Capurso. *Recenti Prog Med* 2016; 107:257-266)
- Il microbiota regola la lipogenesi a partire dai carboidrati aumentando i livelli di insulina e stimolando la trascrizione di geni che codificano enzimi coinvolti nella lipogenesi.
- Alti livelli di bifidobatteri correlano positivamente con HDL colesterolo  
( Martinez I et al, *Appl Environ Microbiol* 2009)
- La disbiosi altera il metabolismo degli acidi biliari e riduce l'attivazione dei FXRs ( pertanto manca la riduzione della produzione epatica di VLDL, e il calo di trigliceridi e colesterolo ematici ).  
( Carthage P. Moran et al, *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2014)



# Disbiosi e aterosclerosi



- La infiammazione cronica sistemica, la disfunzione endoteliale e l'aggregazione piastrinica sono precursori di aterosclerosi.  
(G.Urso et G.Caimi, *Minerva Med* 2011)
- LPS stimola l'ossidazione delle LDL rendendole tossiche per la cellula endoteliale; aumenta le citochine infiammatorie con danno endoteliale
- Ridotta attivazione dei TGR5 da parte degli ac. biliari (ridotta attività dell'ossido-nitrico-sintetasi endoteliale con ridotti livelli di ossido nitrico)

- *Il contributo della disbiosi intestinale nelle malattie cardiache e neurologiche si realizza tramite :*

1) l'attivazione delle **varie condizioni che inducono aterosclerosi** ( es. sindrome metabolica, diabete, ipertensione arteriosa)

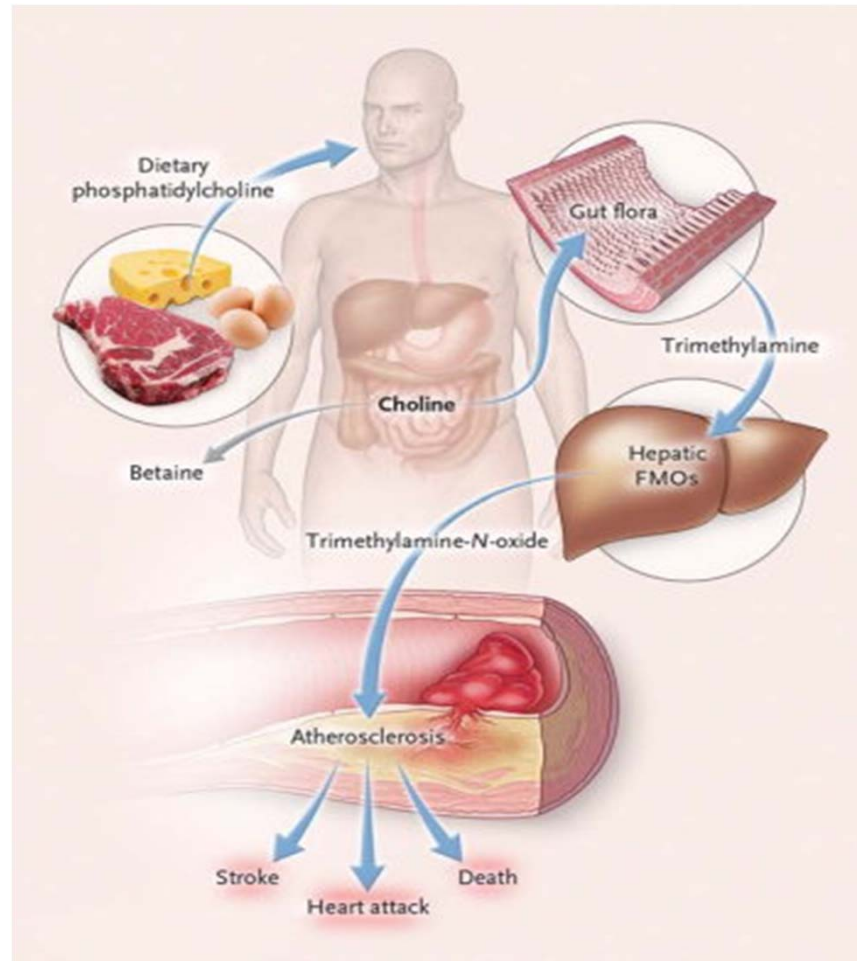
(Barrington WT et al, *Nat Rev Cardiol* 2017)

2) **metaboliti tossici** prodotti dai batteri (es. Trimetilammina ossidata TMAO )

(Tang W et al, *N Engl J Med* 2013)

# TrimetilamminaN-ossido(TMAO):

fattore di rischio cardiovascolare



- Origina dal metabolismo microbico di colina e L-carnitina (carne rossa, pesce, pollame, uova) che arrivano al colon (non assorbite dal tenue perché in eccesso); TMA viene ossidata a TMAO nel fegato ad opera di monoossigenasi.
- TMAO determinano accumulo di colesterolo nei macrofagi e accumulo di cellule schiumose nelle pareti delle arterie  
(Tang WH et al, N Engl J Med 2013)
- Alcune tipologie di batteri (Prevotella) sono associate ad alte concentrazioni plasmatiche di TMAO
- Batteri che processano la colina identificati: clostridium, proteus, anaerococcus, edwardsiella

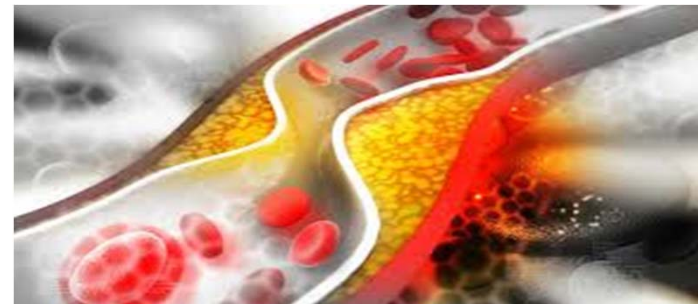
(Romano KA et al, Mbio 2015)

## Studio coordinato da Kathryn M. Rexrode MD (University Tulane, New Orleans, USA)

- Review (19 studi prospettici tra il 2013 e 2017; 19.256 pazienti coronaropatici)
- *Alti livelli di TMAO sono associati nei coronaropatici a:*
  - *maggior carico aterosclerotico*
  - *alterato signaling del calcio che provoca iperattività piastrinica e fenotipo protrombotico in vivo*

Nei Pz con elevati livelli ematici di TMAO rispetto ai controlli:

- **Aumento del 62% del rischio di sviluppare un evento avverso cardiovascolare**
- **Aumento del 63% del rischio di mortalità**



(Yoriko Heianza et al, J Am Heart Ass 2017)

# Disbiosi nelle malattie cardiovascolari

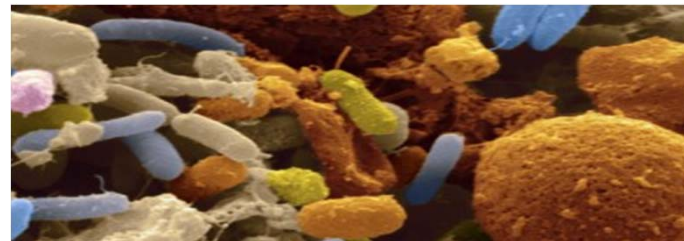
- Il microbiota intestinale ha minore variabilità batterica nello scompenso cardiaco



- I pz con malattie cardio-vascolari hanno un microbiota **con incremento di Enterobacteriaceae** (E.coli, Klebsiella, Enterobacter aerogenes) e **diminuzione di bacterioides e prevotella**

*(Jie Z et al, Nat .Commun 2017)*

- La diversità dell'ecosistema microbico si traduce in differenze funzionali: più batteri che sostengono il trasporto degli zuccheri e aminoacidi ; meno per la biosintesi vitaminica
- La carenza di acido folico determina alterato metabolismo dell'omocisteina



# Microbiota orale e cardiopatie

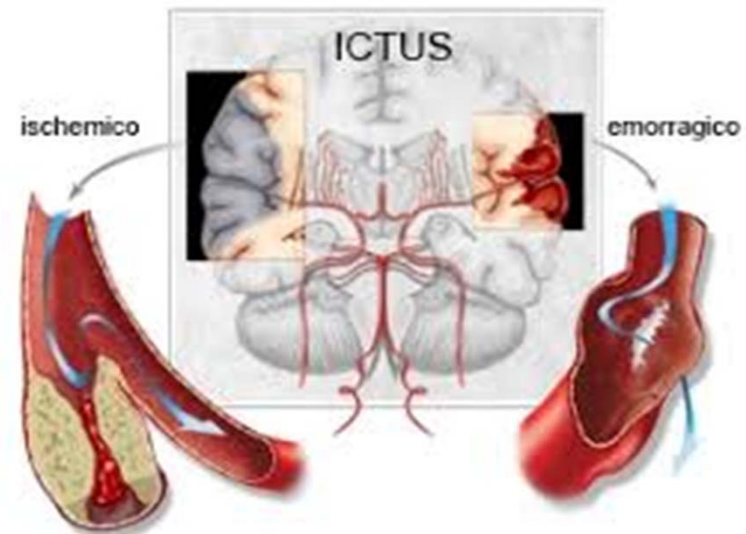
- **Influenza il benessere cardiovascolare**
- Alcuni ceppi trasformano i nitrati alimentari delle foglie verdi in nitriti precursori dell'ossido nitrico (NO) ad azione vasodilatatrice e ipotensiva con effetti cardioprotettivi
- Malattia paradontale si associa ad un incremento di eventi cardiovascolari (+ anaerobi della placca che entrano in circolo)

*(Teles R et al, Oral Dis 2011)*



# Microbiota interagisce con il Sistema nervoso centrale

- Regola la permeabilità della barriera emato-encefalica
- Attiva la microglia
- Riduce i fenomeni involutivi degli astrociti
- Esprime i geni necessari per i processi di mielinizzazione



*(Jose C Clemente, BMJ 2018)*

# Microbiota e ictus cerebrale

- Topi con ictus ischemico indotto, pretrattati con antibiotici per 2 settimane hanno avuto un danno cerebrale inferiore del 60% rispetto ai topi non trattati
- I batteri hanno generato un messaggio di protezione attraverso le cellule immunitarie riducendo l'infiammazione
- Una modificazione dietetica potrebbe modificare l'evoluzione dell'ictus?



*(Josef Anrather et al, Nature Medicine 2016)*

# Microbiota e malattie neurodegenerative

- Autoimmuni: sclerosi multipla
- Non autoimmuni:
  - M Parkinson
  - Alzheimer
  - SLA
- Autismo (?)



*(Tremlett H et al, Annal Neurol 2017)*

Disfunzioni gastrointestinali si associano e spesso precedono la patologia neurologica

COMUNE DENOMINATORE :

STATO INFIAMMATORIO

( citochine

neuropeptidi che dal SNE  
arrivano al SNC per via vagale

- Il microbiota modula l'infiammazione e rallenta mal degenerative e invecchiamento
- Lactobacillus e bifidobacterium sono protettivi sulle funzioni cognitive ( riducono le placche amiloidi nell'Alzheimer; stimolano ormoni come grelina e GLP1 che migliorano apprendimento e memoria)
- Topi germ free o topi trattati con antibiotici a lungo sviluppano sintomi di Parkinson attenuati

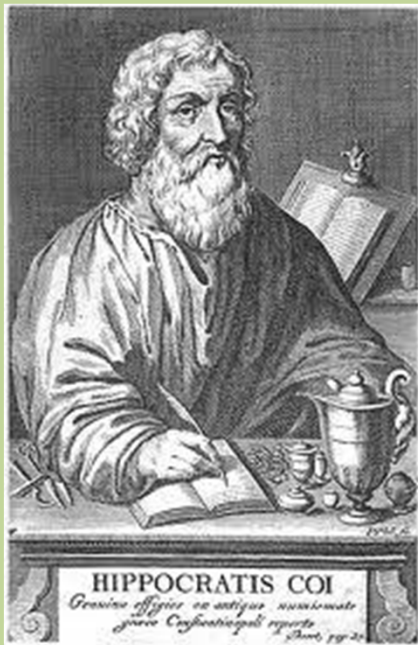
*(Sampson TR et al, Cell 2016)*

# OBIETTIVI della RICERCA

- **Caratterizzazione genetica del microbiota**
- **Identificazione delle alterazioni del microbiota nelle varie patologie intestinali ed extraintestinali**
- **Modulazione del microbiota a scopo terapeutico (diete personalizzate, prebiotici, probiotici, trapianto di microbiota)**



**Già IPPOCRATE 2400 anni fa aveva detto:**



***TUTTE LE MALATTIE  
hanno origine  
nell'INTESTINO***