



MICROBIOMA MICROBIOTA Ricerca & Clinica

n.2/2017

Indice Argomenti

- 1 **Microbiota intestinale e muscolo scheletrico**
Sergio Riso, Chiara Bonardi,
Nadia Milanesio
- 4 **ABC. La diagnosi di sarcopenia**
Alberto Pilotto, Alberto Cella
- 5 **Microbiota intestinale e rischio cardiovascolare: il ruolo della TMAO**
Andrea Poli
- 6 **Depressione e microbiota**
Claudio Mencacci, Virginio Salvi

Comitato Scientifico

Claudio Mencacci

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

Alberto Pilotto

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

Andrea Poli

Nutrition Foundation of Italy, Milano

Sergio Riso

S.S. Dietologia e Nutrizione Clinica,
ASL Vercelli

PACINI
EDITORE
MEDICINA

MICROBIOTA INTESTINALE E MUSCOLO SCHELETRICO

Sergio Riso, Chiara Bonardi, Nadia Milanesio

S.S. Dietologia e Nutrizione Clinica, ASL Vercelli

Il muscolo scheletrico è un tessuto altamente plastico che svolge un ruolo centrale in condizioni sia di salute che di malattia. L'invecchiamento si associa a una diminuzione della massa e della forza muscolare (sarcopenia), con conseguente perdita d'indipendenza e riduzione della qualità della vita. Il microbiota intestinale è sempre più frequentemente considerato come un potenziale fattore responsabile del declino muscolare associato all'età. In effetti, l'età avanzata è caratterizzata da una alterazione dell'omeostasi microbica intestinale (disbiosi) che si associa a una maggiore permeabilità intestinale e conseguente possibile passaggio di endotossine e di altri prodotti microbici (ad es. indossil-solfato) nel circolo sanguigno. Questi fattori, a loro volta, promuovono segnali infiammatori e cambiamenti muscolari scheletrici tipici del fenotipo muscolare dell'anziano.

INTRODUZIONE

Il muscolo scheletro rappresenta il più grande organo all'interno del corpo umano, costituendo circa il 40% della massa corporea totale. Il sistema scheletrico muscolare è principalmente noto per le funzioni di locomozione e di stabilizzazione posturale, oltre a quelle di riserva di macronutrienti, protezione degli organi interni e mantenimento della temperatura. Tuttavia, nell'ultimo decennio, ne è stata

ampiamente studiata anche la funzione "endocrina": mediante il rilascio di fattori di crescita e citochine, il muscolo entra in contatto con altri organi, dai quali, peraltro, provengono anche stimoli in grado di modificarne la fisiologia^{1,2}.

Un sistema con un'enorme potenzialità di impatto sulla fisiologia dell'organismo ospite sembra essere rappresentato dal microbiota intestinale.

MICROBIOTA E METABOLISMO MUSCOLARE

Studi effettuati sull'animale dimostrano chiaramente come elevati livelli circolanti di lipopolisaccaride (LPS), un componente della membrana esterna dei batteri gram-negativi, inducano infiammazione muscolare-scheletrica e insulino-resistenza.

Tuttavia, sono state osservate anche alterazioni metaboliche del tutto indipendenti dall'infiammazione. Ad esempio, a livello dei mioblasti (cellule muscolari embrionali), è stato riscontrato un incremento della glicolisi e dell'attività della via dei pentoso-fosfati in risposta a uno specifico metabolita (indossil-fosfato) del microbiota intestinale³. Inoltre, dopo l'esposizione di miotubi (unità derivate dalla fusione di mioblasti) a vescicole extracellulari provenienti dal microbiota intestinale, si è potuta registrare l'insorgenza d'insulino-resistenza⁴. Queste osservazioni sottolineano il

fatto che, attraverso numerose vie, il microbiota intestinale può influenzare le funzioni metaboliche del muscolo scheletrico.

MICROBIOTA E MASSA. STRUTTURA E FUNZIONE MUSCOLARE

Massa muscolare

Il processo d'invecchiamento si correla ad alterazioni in numerosi sistemi fisiologici e a un declino funzionale generalizzato. Un aspetto comune del soggetto anziano è rappresentato da uno stato infiammatorio sistemico cronico, definito "inflammaging", caratterizzato da un'aumentata concentrazione sierica di alcuni mediatori pro-infiammatori, tra i quali: proteine della fase acuta (PCR e amiloide sierica A), citochine (TNF- α , IL-6 e IL-8) e molecole di adesione (sICAM-1 e sVCAM-1). Questa infiammazione, attraverso un'alterazione nell'equilibrio tra i processi di sintesi e catabolismo proteico, si associa a una riduzione della massa e della forza muscolare (sarcopenia) e si ritiene potenzialmente in grado di innescare o favorire lo sviluppo delle principali patologie età-correlate⁵.

Tra i possibili "triggers" dell'infiammazione sono stati proposti: stress ossidativo, immuno/endocrino-senescenza, danno al DNA, modificazioni epigenetiche e disbiosi con aumentati livelli di endotossine circolanti (LPS)⁶.

È interessante sottolineare che un derivato del triptofano, l'indossil-fosfato, i cui livelli aumentano con l'età, è in grado di indurre, in colture di miociti, l'espressione di citochine infiammatorie (IL-6 e TNF- α) e di markers dell'atrofia muscolare (miostatina e atrogin-1) alla stessa maniera dei lipopolisaccaridi.

Studi nell'animale dimostrano come i probiotici (in particolare alcune specie di lattobacilli) e i prebiotici (oligofruztosio, inulina, fruttani) siano in grado di ridurre i livelli circolanti di citochine pro-infiammatorie, di LPS, di aumentare le concentrazioni intestinali di lattobacilli e bifidi e incrementare la massa muscolare⁷⁻¹⁰. Tali dati supportano l'idea che la supplementazione con pre- e/o probiotici, efficace nell'aumentare le concentrazioni di bifidi e la produzione di butirrato nel soggetto anziano, possa rallentare la perdita di massa muscolare dovuta all'invecchiamento^{11,12}.

Struttura muscolare

Durante il processo di invecchiamento la perdita di forza muscolare è maggiore di quella della massa, suggerendo quindi un

cambiamento della qualità muscolare ovvero, in ultima analisi, della funzione.

Studi nell'animale sembrano confermare l'esistenza di una possibile correlazione tra variazioni nel microbiota intestinale (aumento di enterobatteri e riduzione di lattobacilli), infiammazione e modificazioni della composizione muscolare (infiltrazione di tessuto adiposo), tipiche dell'invecchiamento^{13,14}. Senza dimenticare poi che, nell'uomo, le alterazioni età-correlate del microbiota sono state proposte come responsabili di disregolazioni a livello del tessuto osseo, muscolare e adiposo (obesità osteosarcopenica).

Oltre alle variazioni nella composizione muscolare, il processo di invecchiamento si associa anche ad alterazioni nella distribuzione di catene pesanti di miosina, con progressiva perdita di fibre muscolari rapide. Si ipotizza che queste trasformazioni siano alla base della riduzione di potenza e dell'aumentato rischio di cadute tipiche dell'anziano¹⁵.

Studi nell'animale sembrano effettivamente sottolineare la possibilità che le alterazioni del microbiota possano condizionare i cambiamenti nella composizione muscolare di catene pesanti di miosina¹⁶.

Funzione muscolare

Le variazioni età-correlate di massa e struttura muscolare determinano una riduzione della funzione muscolare (forza e potenza), che in ultima analisi influenza la performance fisica e la capacità di vivere in maniera indipendente.

Studi in soggetti anziani dimostrano una riduzione dei lattobacilli e un aumento degli enterobatteri direttamente proporzionale al grado di fragilità¹⁷. Inoltre, i soggetti con maggior performance fisica presentano una maggior quantità di batteri produttori di butirrato, ad azione protettiva nei confronti della disbiosi intestinale. Infatti, il butirrato, si è dimostrato efficace nel migliorare la funzione di barriera intestinale mantenendo l'integrità delle giunzioni serrate, in modo da prevenire la traslocazione batterica e ridurre l'infiammazione^{18,19}.

Di una certa rilevanza poi il recente riscontro di un miglioramento della forza muscolare (handgrip) e della resistenza in soggetti anziani fragili dopo supplementazione con prebiotici (inulina e frutto-oligosaccaridi)²⁰.

MICROBIOTA E INVECCHIAMENTO

I cambiamenti età-correlati nella composizione del microbiota intestinale generalmente comprendono: una minor biodiversità,

una riduzione dei batteri saccarolitici a favore di quelli proteolitici, un impoverimento delle specie dominanti (core) e un aumento di quelle sottodominanti, un aumento di alcuni tipi di proteobatteri e infine una riduzione dei bifidi e del rapporto firmicuti/batteroidi⁵.

Tra i fattori responsabili della diversità del microbiota, certamente la dieta svolge un ruolo chiave, attraverso effetti antinfiammatori indiretti (microbiota-mediati) e diretti.

Una dieta salutare, in particolare di tipo mediterraneo, ricca in cereali integrali, pesce, frutta fresca, verdura e frutta secca, rispetto a una dieta occidentale, si associa a una minor concentrazione dei mediatori dell'infiammazione. Tra i componenti dietetici responsabili di questi effetti si annoverano polifenoli, antiossidanti, acidi grassi omega-3, fibra e prebiotici. Anche i probiotici, vista l'interazione esistente tra il microbioma intestinale e il sistema infiammatorio, potrebbero svolgere un importante ruolo strategico.

Tuttavia, nel soggetto anziano, l'ambiente di vita (propria abitazione, casa di riposo, ospedale), la presbifagia (edentulia, xerostomia, ipogeusia), la disfagia, l'anoressia, la stipsi, la depressione e le patologie croniche rappresentano condizioni che frequentemente impongono importanti cambiamenti dietetici responsabili dell'insorgenza di disbiosi e conseguente infiammazione, fattore in grado di contribuire o accelerare la perdita di massa e forza muscolare tipiche dell'invecchiamento.

ASSE INTESTINO-MUSCOLO

In conclusione, sulla base di quanto riscontrabile in letteratura, è possibile ipotizzare una regolazione di tipo "endocrino" del muscolo scheletrico da parte del microbiota intestinale (Fig. 1). Il punto di partenza è rappresentato da una alterazione dell'omeostasi microbica intestinale, a cui si associa un aumento della permeabilità dovuta a una riduzione dell'integrità delle giunzioni serrate. Ne deriva una traslocazione nel circolo sanguigno di prodotti microbici, in particolare lipopolisaccaridi, i principali componenti della membrana esterna dei batteri gram-negativi. Una volta nel sangue, le endotossine promuovono una infiammazione sistemica che si ipotizza essere responsabile dell'atrofia muscolare, della perdita d'indipendenza e della peggior qualità di vita caratteristiche del soggetto anziano⁶.

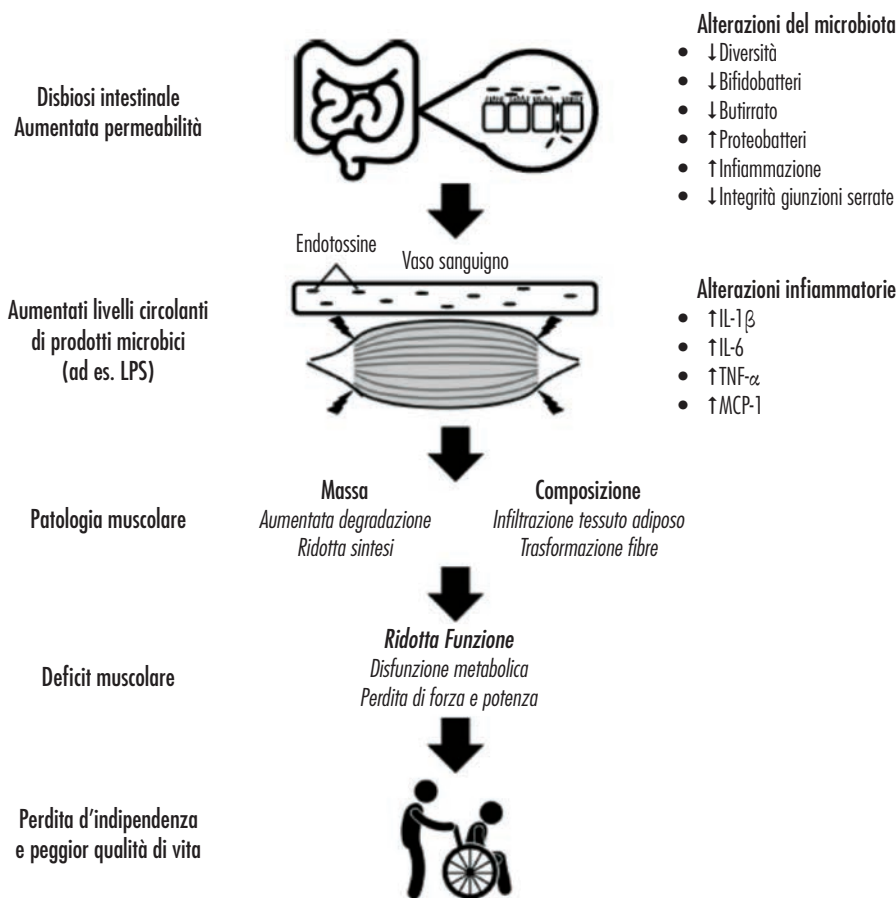


FIGURA 1.

Asse Intestino-Muscolo. Le alterazioni microbiche intestinali età-correlate riducono l'integrità delle giunzioni serrate e, aumentando la permeabilità intestinale, favoriscono il passaggio di prodotti microbici (ad es. lipopolisaccaridi, indossil-solfato) nel sangue. Raggiunto il circolo ematico, le endotossine e altri fattori microbici innescano segnali pro-infiammatori che si ipotizza promotori di atrofia e di alterazioni strutturali muscolari. Questi cambiamenti sono responsabili di alterazioni nelle funzioni metaboliche e contrattili della muscolatura scheletrica, con perdita di capacità funzionale, indipendenza e peggior qualità di vita (da Grosicki, 2017, mod.)⁶.

Bibliografia

- 1 Bortoluzzi S, Scannapieco P, Cestaro A, et al. Computational reconstruction of the human skeletal muscle secretome. *Proteins* 2006;62:776-92.
- 2 Henningsen J, Rigbolt KT, Blagoev B, et al. Dynamics of the skeletal muscle secretome during myoblast differentiation. *Mol Cell Proteomics* 2010;9:2482-96.
- 3 Sato E, Mori T, Mishima E, et al. Metabolic alterations by indoxyl sulfate in skeletal muscle induce uremic sarcopenia in chronic kidney disease. *Sci Rep* 2016;6:36618.
- 4 Choi Y, Kwon Y, Kim D-K, et al. Gut microbe-derived extracellular vesicles induce insulin resistance, thereby impairing glu-

- 5 cose metabolism in skeletal muscle. *Sci Rep* 2015;5:15878.
- 5 Vaiserman AM, Koliada AK, Marotta F. Gut microbiota: A player in aging and a target for anti-aging intervention. *Ageing Res Rev* 2017;35:36-45.
- 6 Grosicki GJ, Fielding RA, Lustgarten MS. Gut microbiota contribute to age-related changes in skeletal muscle size, composition, and function: biological basis for a gut-muscle axis. *Calcif Tissue Int* 2017.
- 7 Bindels LB, Beck R, Schakman O, et al. Restoring specific lactobacilli levels decreases inflammation and muscle atrophy markers in an acute leukemia mouse model. *PLoS One* 2012;7:1-10.
- 8 Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T,

et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut* 2009;58:1091-103.

- 9 Everard A, Lazarevic V, Derrien M, et al. Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. *Diabetes* 2011;60:2775-86.
- 10 Bindels LB, Neyrinck AM, Claus SP, et al. Synbiotic approach restores intestinal homeostasis and prolongs survival in leukaemic mice with cachexia. *ISME J* 2016;10:1456-70.
- 11 Walsh ME, Bhattacharya A, Sataranatarajan K, et al. *Aging Cell* 2015;14:957-70.
- 12 Eloë-Fadrosh EA, Brady A, Crabtree J, et al. Functional dynamics of the gut microbiome in elderly people during probiotic consumption. *MBio* 2015.
- 13 Biagi E, Nylund L, Candela M, et al. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One* 2010;5:e10667.
- 14 Collins KH, Paul HA, Hart DA, et al. A high-fat high-sucrose diet rapidly alters muscle integrity, inflammation and gut microbiota in male rats. *Sci Rep* 2016;6:37278.
- 15 Reid KF, Fielding RA. Skeletal muscle power: a critical determinant of physical functioning in older adults. *Exerc Sport Sci Rev* 2012;40:4-12.
- 16 Yan H, Diao H, Xiao Y, et al. Gut microbiota can transfer fiber characteristics and lipid metabolic profiles of skeletal muscle from pigs to germ-free mice. *Sci Rep* 2016;6:31786.
- 17 van Tongeren S, Slaets J, Harmsen H, et al. Fecal microbiota composition and frailty. *Appl Environ Microbiol* 2005;71:6438-42.
- 18 Peng L, Li ZR, Green RS, et al. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J Nutr* 2009;139:1619-25.
- 19 Cox MA, Jackson J, Stanton M, et al. Short-chain fatty acids act as anti-inflammatory mediators by regulating prostaglandin E(2) and cytokines. *World J Gastroenterol* 2009;15:5549-57.
- 20 Buigues C, Fernández-Garrido J, Pruijboom L, et al. Effect of a prebiotic formulation on frailty syndrome: a randomized, double-blind clinical trial. *Int J Mol Sci* 2016;17:E392.

ABC. LA DIAGNOSI DI SARCOPENIA

Alberto Pilotto, Alberto Cella

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

Secondo la definizione dell'European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGOP) la sarcopenia è una sindrome clinica caratterizzata da: 1) progressiva e generalizzata perdita di massa muscolare magra; 2) riduzione di forza muscolare; 3) riduzione delle performance funzionali. Tale condizione è tipica dell'età anziana, determina un aumentato rischio di cadute, fratture, disabilità ed è una cruciale componente fisiopatologica della fragilità fisica¹. Recentemente la sarcopenia è stata riconosciuta come una condizione patologica indipendente e inclusa nel sistema internazionale di classificazione delle malattie, decima edizione, di prossima introduzione anche in Italia (ICD-10-CM)².

MISURAZIONE DELLA MASSA MUSCOLARE MAGRA

Per la determinazione della massa magra

sono attualmente disponibili metodiche radiologiche quali la densitometria DEXA (Dual-Energy-X-Ray Absorptiometry), la TAC (Tomografia Assiale Computerizzata) e la RMN (Risonanza Magnetica Nucleare); sebbene considerate metodiche di riferimento, l'accesso a tali esami strumentali risulta non sempre agevole nella comune pratica clinica. La bio-impedenziometria è un esame decisamente più economico ed esente da potenziali rischi legati alla somministrazione di radiazioni³, fatta salva la disponibilità di equazioni di predizione per la popolazione in esame (in genere derivata dalla DEXA)⁴.

MISURAZIONE DELLA FORZA MUSCOLARE

La forza muscolare viene misurata mediante dinamometro. Pur essendo disponibili dinamometri specifici per i diversi settori

muscolari del corpo, la misurazione della forza di presa della mano (*test Hand Grip*) è attualmente il test di riferimento per la diagnosi di sarcopenia in quanto significativamente correlato con tutti gli outcome considerati.

MISURAZIONI DI PERFORMANCE

Numerosi test valutano le performance funzionali di un individuo. La velocità del cammino in un percorso di 4 o 6 metri (*Gait Speed*) è quello ritenuto attualmente di riferimento per la diagnosi di sarcopenia. Altri test quali il test breve di performance fisica (*Short Physical Performance Battery, SPPB*) combina i risultati del *Gait Speed* con il test di alzata dalla sedia e il test dell'equilibrio. In soggetti anziani ospedalizzati non in grado di svolgere il *Gait Speed test* è stato recentemente proposto l'impiego della valutazione delle attività della vita quotidiana (*Activities of Daily Living, ADL*) come proxy di valutazione delle performance individuali⁵.

Bibliografia

- 1 Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, et al. Sarcopenia: European Consensus on definition and diagnosis: report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* 2010;39:412-23.
- 2 Cao L, Morley JE. Sarcopenia is recognized as an independent condition by an International Classification of Disease, Tenth Revision, Clinical Modification (ICD-10-CM) Code. *J Am Med Dir Assoc* 2016;17:675-7.
- 3 Studenski SA, Peters KW, Alley DE, et al. The FNIH sarcopenia project: rationale, study description, conference recommendations and final estimates. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014;69:547-58.
- 4 Gonzalez MC, Heymsfield SB. Bioelectrical impedance analysis for diagnosing sarcopenia and cachexia: what are we really estimating? *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2017;8:187-9.
- 5 Bianchi L, Abete P, Bellelli G, et al. Prevalence and clinical correlates of sarcopenia, identified according to the EWG-SOP definition and diagnostic algorithm, in hospitalized older people: the Glisten Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2017;71:1575-81.

Tabella I. Criteri e valori di cut-off per la diagnosi di sarcopenia.

<i>Gait Speed</i>	< 0,80 m/sec
<i>Hand Grip</i>	Nell'uomo: <ul style="list-style-type: none">• BMI ≤ 24 → <i>Hand Grip</i> ≤ 29• BMI > 24 e ≤ 28 → <i>Hand Grip</i> ≤ 30• BMI > 28 → <i>Hand Grip</i> ≤ 32 Nella donna: <ul style="list-style-type: none">• BMI ≤ 23 → <i>Hand Grip</i> ≤ 17• BMI > 23 e ≤ 26 → <i>Hand Grip</i> ≤ 17,3• BMI > 26 e ≤ 29 → <i>Hand Grip</i> ≤ 18• BMI > 29 → <i>Hand Grip</i> ≤ 21
Massa magra (BIA)	IMM Nell'uomo: IMM < 8,87 kg/m ² Nella donna: IMM < 6,42 kg/m ²

IMM: indice di massa magra; BMI: Body Mass Index: peso/altezza² = kg/m²; Hand Grip = kg; BIA: bioimpedenziometria = kg/m².

Tabella II. Classi di severità di sarcopenia ricavate dai test diagnostici standard.

Normale	Normali valori di indice di massa magra, di <i>Gait Speed</i> e di <i>Hand Grip</i>
Pre-sarcopenia	Ridotto indice di massa magra, con normali valori di <i>Gait Speed</i> e di <i>Hand Grip</i>
Sarcopenia	Ridotto indice di massa magra, con ridotti valori di <i>Gait Speed</i> o di <i>Hand Grip</i>
Sarcopenia severa	Ridotto indice di massa magra, con ridotti valori di <i>Gait Speed</i> e di <i>Hand Grip</i>

MICROBIOTA INTESTINALE E RISCHIO CARDIOVASCOLARE: IL RUOLO DELLA TMAO

Andrea Poli

Nutrition Foundation of Italy, Milano

Vi siete mai chiesti perché il consumo di carne e di uova si associ – secondo molti studi di epidemiologia osservazionale – a un aumento del rischio cardiovascolare (CV)? La spiegazione classica di questa associazione fa riferimento soprattutto alla presenza, in questi alimenti, di acidi grassi saturi (specie nella carne) e di colesterolo preformato (specie nelle uova). Ambedue questi componenti aumenterebbero i livelli del colesterolo legato alle LDL, e quindi il rischio CV.

Questa interpretazione si è tuttavia, di recente, molto indebolita. Una metanalisi del 2015¹, confermando evidenze già presenti in letteratura, ha innanzitutto sensibilmente ridimensionato il possibile ruolo dei saturi nell'aumentare il rischio CV, negando che un loro consumo (elevato o basso che sia) abbia effetti sull'incidenza delle malattie CV o sulla mortalità per tutte le cause; quanto all'effetto del colesterolo alimentare sulla colesterolemia LDL, sappiamo da tempo che è modesto, e probabilmente ben poco rilevante nella larga maggioranza della popolazione.

Eppure, il consumo di uova, pur non inducendo variazioni significative della colesterolemia legata alle LDL o alle HDL, si associava a un rilevante aumento della presenza di lesioni ateromatose nel bulbo carotideo secondo uno studio canadese di alcuni anni addietro². È possibile quindi che le uova favoriscano la formazione di lesioni ateromatiche mediante meccanismi non collegati al loro effetto sulla colesterolemia?

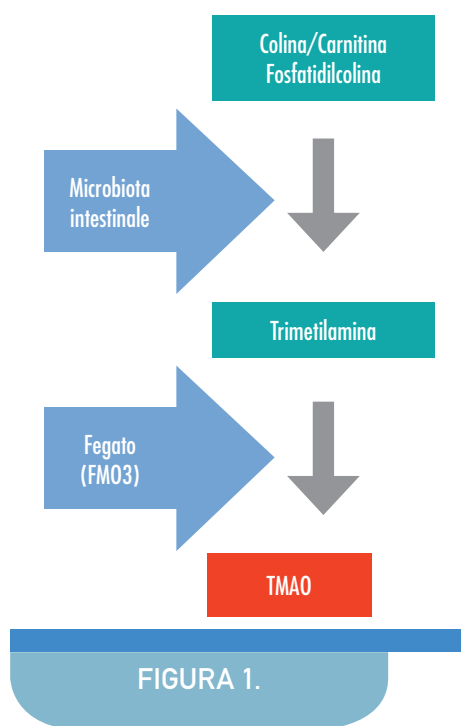
Sembrerebbe di sì: e questo meccanismo sarebbe condiviso da altri alimenti di origine animale (tipicamente la carne) ricchi di colina, o di fosfatidilcolina, o ancora di carnitina. Gli autori di un lavoro ormai classico, al proposito, hanno identificato e caratterizzato un meccanismo metabolico ben definito che, partendo dai composti ricordati, porta alla formazione di trimetilamina (TMA); la TMA verrebbe quindi ossidata, per via enzimatica, dal fegato, con formazione di trimetilamina ossido (TMAO)³ (Fig. 1).

Sarebbe la TMAO a essere responsabile

del danno arterioso: se i suoi livelli ematici sono elevati, infatti, il rischio di eventi CV aumenterebbe del 60% circa, secondo una recente metanalisi⁴; tale aumento sarebbe del tutto indipendente dai fattori di rischio CV tradizionali, correlando forse, invece, con un funzionamento meno efficiente dei meccanismi del cosiddetto "trasporto inverso" del colesterolo.

È interessante osservare che la conversione della carnitina, della colina o della lecitina in TMA (che attiva i processi metabolici successivi, prima ricordati) avviene solamente in presenza, a livello intestinale, di ceppi batterici caratterizzati dalla presenza di una specifica dotazione enzimatica.

Il microbiota intestinale farebbe quindi un ingresso da primattore sulla scena del rischio CV.



Meccanismo di conversione di alcuni componenti di carne e uova in TMAO, mediante l'intervento sequenziale del microbiota intestinale e di alcuni enzimi epatici (FMO3).

Il ruolo determinante del microbiota in questa sequenza metabolica è documentato chiaramente in modelli sperimentali animali: la somministrazione di carnitina, nel topo, porta a un rilevante aumento dei livelli plasmatici di TMA e di TMAO, ma il pretrattamento con antibiotici annulla tale aumento, bloccando la conversione della carnitina nelle molecole ricordate³.

Le implicazioni pratiche di questi dati sono rilevanti. È intuitivo che, se il meccanismo descritto è quello che spiega il danno vascolare associato al consumo della carne e delle uova, tale danno potrebbe essere eliminato semplicemente modificando la composizione del microbiota intestinale. Analogamente, è ipotizzabile che soggetti con una diversa composizione del microbiota stesso possano reagire in modo completamente diverso all'apporto alimentare di carnitina e di colina (e quindi di carne e di uova), che si trasformerebbero in TMAO nei soggetti che ospitano nel loro intestino i ceppi batterici rilevanti al proposito, mentre in altri soggetti (privi di tali ceppi nella rispettiva flora intestinale) tale conversione potrebbe non aver luogo.

Se questo scenario venisse confermato, modificare la dieta, o invece intervenire sul microbiota, e quindi sulle modificazioni metaboliche indotte dal microbiota stesso su componenti della dieta, diventerebbero procedure *alternative*, da valutare attentamente nei loro effetti complessivi sul rischio CV.

Ma trasferire questi concetti generali alle raccomandazioni operative è complesso, e probabilmente per ora prematuro. La variabilità delle risposte individuali (in termini di produzione di TMAO dopo un carico di uova) è innanzitutto molto elevata: nel singolo soggetto, la conversione da carnitina/colina/lecitina a TMA può avere o meno luogo per fattori che ancora non conosciamo, o che conosciamo solo parzialmente.

Non conosciamo, allo stesso modo, quali specie o ceppi del microbiota giochino un ruolo essenziale in queste sequenze metaboliche, e nemmeno siamo in grado di influenzare, mediante meccanismi di competizione tra le varie specie batteriche, la capacità complessiva del microbiota stesso di produrre TMA. Ma è ragionevole pensare che, in tempi più o meno brevi, potremo controllare e influenzare questi processi: modificando così in modo marcato – se i presupposti si riveleranno esatti – la relazione tra alcuni importanti componenti della dieta e la salute.

Per ora rimangono in vigore le regole base della moderazione e del buon senso: non eccedere con il consumo di alimenti di origine animale, e quindi non introdurre un eccesso di carnitina, colina e lecitina, permetterà – in media – di tenere sotto controllo i livelli di TMAO nel sangue e, probabilmente, di selezionare un microbiota poco responsivo a queste molecole, e quindi meno efficiente nell'iniziarne la conversione nel derivato finale "pericoloso", la TMAO. Ma in un futuro, forse nemmeno troppo lon-

tano, questo scenario potrebbe modificarsi in modo radicale: con implicazioni che per ora possiamo solo immaginare.

Bibliografia

- 1 de Souza RJ, Mentz A, Maroleanu A, et al. *Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all-cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies.* BMJ 2015;351:h3978.
- 2 Spence JD, Jenkins DJ, Davignon J. *Egg yolk*

consumption and carotid plaque. Atherosclerosis 2012;224:469-73.

- 3 Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. *Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis.* Nat Med 2013;19:576-85.
- 4 Heianza Y, Ma W, Manson JE, et al. *Gut Microbiota Metabolites and Risk of Major Adverse Cardiovascular Disease Events and Death: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies.* J Am Heart Assoc 2017;6(7). pii: e004947. doi: 10.1161/JAHA.116.004947

DEPRESSIONE E MICROBIOTA

Claudio Mencacci, Virginio Salvi

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

La depressione è un disturbo altamente prevalente, con importanti ricadute in ambito familiare, sociale e lavorativo, riconosciuto come una delle principali cause di disabilità al mondo dall'OMS¹. Nonostante l'elevata prevalenza e la disponibilità di numerose molecole antidepressive, la depressione è un disturbo spesso resistente al trattamento: dei pazienti correttamente diagnosticati, il 50% circa non risponde al trattamento o continua a manifestare sintomi residui. È pertanto estremamente rilevante riuscire a comprendere le cause neurobiologiche e ambientali e le loro interazioni, anche ai fini della ricerca di trattamenti sempre più efficaci.

Il microbiota gastrointestinale può interagire con svariati sistemi, da quello immunitario all'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), alla produzione di neurotrasmettitori e neuropeptidi, motivo per cui in anni recenti è stata studiata la sua relazione con i disturbi depressivi.

Un primo trait d'union fra depressione e microbiota potrebbe essere costituito dall'infiammazione. Il legame fra infiammazione e depressione è stato ampiamente dimostrato: da una parte pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche manifestano frequentemente disturbi depressivi in comorbilità, dall'altra moltissimi studi hanno confermato la presenza di alti livelli di citochine pro-infiammatorie in soggetti affetti da depressione. In condizioni di disbiosi, ovvero di squilibrio del microbiota intestinale con il prevalere di alcuni ceppi batterici patogeni su altri protettivi, il microbiota può determinare un aumento dell'infiammazione, che può avvenire attraverso vari meccanismi. Innanzitutto si

può verificare un aumento della permeabilità della parete gastrointestinale normalmente separata dagli altri tessuti grazie alla presenza di giunzioni strette. In condizioni di disbiosi tali giunzioni perdono di efficacia e si crea il cosiddetto "leaky gut", con conseguente invasione da parte del microbiota dei tessuti contigui e aumento dell'infiammazione². L'attivazione pro-infiammatoria da parte del microbiota può anche essere indiretta, attraverso la produzione di metaboliti che interagiscono con linfociti e macrofagi inducendo la produzione di citochine proinfiammatorie quali IL-1, IL-6, TNF- α e neuropeptidi intestinali^{3,4}. Inoltre, fra i prodotti metabolici dei batteri che compongono il microbiota, ci sono anche gli acidi grassi a catena corta, anch'essi in grado di legarsi a linfociti T e B, determinando la produzione di citochine, peptide YY e GLP-1, dotati di attività pro-infiammatoria⁵. Viceversa, alcuni ceppi batterici costituenti il microbiota sembrano possedere attività antiinfiammatoria⁶.

Un'altra via attraverso la quale il microbiota può influenzare patogenesi e mantenimento dei disturbi depressivi è l'interazione con l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) e conseguentemente con la risposta allo stress⁷. Sudo et al. furono i primi a dimostrare che topi "germ-free" (GF), ovvero nati e allevati in ambiente sterile senza contaminazione da parte di microorganismi commensali, mostravano un'esagerata risposta allo stress, evidenziata dall'incremento di ACTH e corticosterone, che si riduceva dopo colonizzazione con *Bifidobacterium infantis*⁸.

Un'ulteriore connessione fra microbiota e cer-

vello risiede nel metabolismo del triptofano, aminoacido essenziale per la produzione di serotonina la cui carenza è stata associata alla comparsa di sintomi depressivi. Alcuni studi hanno sottolineato come il microbiota possa influenzare il metabolismo del triptofano: alcuni ceppi di batteri sono ad esempio in grado di facilitare la produzione di kinurenina, uno dei prodotti del catabolismo del triptofano dotato di attività antiglutammatergica, pertanto con attività protettiva rispetto alla citotossicità⁹. Infine, alcuni batteri producono direttamente neurotrasmettitori e fattori di crescita quali GABA e BDNF, anch'essi implicati nella patogenesi della depressione¹⁰.

Come si vede, esistono molteplici meccanismi, primo fra tutti quello infiammatorio, attraverso cui il microbiota può contribuire alla patogenesi della depressione o influenzare, in un senso o nell'altro, i comportamenti e i sintomi depressivi. Gli studi che hanno valutato l'impatto del microbiota in tal senso sono di due tipi: sull'animale e, molto meno numerosi, sull'uomo. I primi sono stati condotti principalmente su topi GF, ovvero allevati in ambiente sterile senza sviluppo di microbiota. Quando questi venivano sottoposti a test stressanti esibivano meno comportamenti di evitamento o rinuncia, assimilabili a comportamenti che si osservano in condizioni di ansia o depressione^{11,12}. Viceversa, quando venivano contaminati con microbiota intestinale di altri topi si sono evidenziati una riduzione del comportamento esplorativo e un aumento di comportamenti correlati all'ansia¹⁷, il che suggerisce come la composizione del microbiota possa influenzare il comportamento. Per quanto riguarda l'uomo, alcuni studi condotti su pazienti con depressione maggiore hanno messo in evidenza l'alterazione della composizione batterica fecale rispetto ai controlli sani, scoprendo nei primi elevati livelli di batteri appartenenti ai phyla *Bacteroidetes*,

Proteobacteria e *Actinobacteria*, oltre a bassi livelli di batteri *Firmicutes*^{13 14 15}. Questi studi, trasversali, non sono tuttavia informativi circa la direzione dell'associazione; in altre parole è possibile che la depressione stessa, anche in virtù di un cambiamento nell'alimentazione, induca un'alterazione nella composizione del microbiota. Uno studio su animali ha tuttavia contribuito a chiarire il fenomeno: a ratti con comportamenti di tipo depressivo, che effettivamente mostravano una differente composizione del microbiota intestinale, veniva prelevato un campione di batteri fecali che venivano poi trapiantati nei ratti "sani". Nello studio, gli animali infettati sviluppavano anch'essi comportamenti riferibili a depressione, suggerendo così che sia l'alterazione del microbiota a causare depressione e non viceversa¹⁶.

Queste osservazioni, e in particolare la possibilità di indurre depressione modificando la flora batterica, hanno fatto quindi ipotizzare che l'impiego di terapie antibiotiche o probiotiche atte a selezionare specifici ceppi di batteri possa agire in senso antidepressivo. Nello studio descritto più sopra, i topi GF che dopo contaminazione da parte del microbiota di altri topi avevano manifestato comportamenti di evitamento, dopo trattamento con una miscela di antibiotici e antifungini manifestavano una ripresa dei comportamenti esplorativi. Viceversa, la somministrazione degli stessi antibiotici a topi GF non induceva alcuna modificazione del comportamento¹⁷. Nell'unico studio con antibioticoterapia condotto sull'uomo, l'antibiotico minociclina ha dimostrato di essere più efficace del placebo nel ridurre i sintomi depressivi in pazienti HIV positivi con depressione maggiore, tuttavia non è ancora possibile stabilire se il risultato sia dovuto a un effetto positivo sul microbiota oppure a un aspecifico effetto antiinfiammatorio¹⁸.

Anche l'uso di probiotici, spostando l'equilibrio e la composizione del microbiota intestinale, ha dimostrato di indurre modificazioni del comportamento. In uno studio su topi separati dalla madre in età neonatale, il trattamento con *Bifidobacterium infantis* riduceva i comportamenti di tipo depressivo¹⁹, mentre in uno studio successivo il trattamento con *Lactobacillus rhamnosus* riduceva comportamenti correlati ad ansia e depressione in topi sottoposti a stress²⁰. Infine, in uno studio recentemente pubblicato su topi che a seguito di stress cronico avevano sviluppato anedonia, immobilità e riduzione dei comportamenti esplorativi, il trattamento con una miscela di probiotici (frutto-oligosacca-

ridi e galatto-oligosaccaridi) migliorava tali comportamenti²¹.

Dati i risultati positivi nell'animale, sono stati condotti alcuni studi in doppio cieco per valutare l'efficacia dell'utilizzo di probiotici sui sintomi depressivi nell'uomo.

In uno dei primi studi pubblicati, venivano valutati umore e capacità cognitive di un gruppo di 124 volontari sani trattati con un drink probiotico o con un drink placebo; dopo 3 settimane di trattamento, solo i soggetti con depressione lieve erano migliorati in maniera significativa rispetto a quelli trattati con placebo²². In uno studio successivo, soggetti sani trattati con *Lactobacillus helveticus* e *Bifidobacterium longum* avevano, dopo 30 giorni di trattamento, punteggi più bassi alla Hospital Anxiety and Depression Scale rispetto a quelli trattati con placebo²³. Sempre in soggetti sani Steenbergen et al. hanno evidenziato una riduzione della vulnerabilità alla depressione e di ruminazioni negative dopo 4 settimane di trattamento con una miscela di probiotici rispetto al placebo, benché non si assistesse a una significativa riduzione del punteggio alla Beck Depression Inventory²⁴. Infine, un solo studio ha valutato l'impatto di una miscela di probiotici o placebo su un campione clinico di 40 pazienti con depressione maggiore, riscontrando una riduzione significativa dei sintomi depressivi dopo 8 settimane⁶. È interessante notare come nei soggetti trattati con probiotici si riducessero anche i livelli di proteina C reattiva, un marker dell'infiammazione; l'effetto antidepressivo del probiotico potrebbe quindi essere mediato da un effetto antiinfiammatorio sistemico.

Nel loro complesso i lavori finora pubblicati hanno sottolineato un impatto positivo della supplementazione di probiotici sulla depressione lieve, segnalandone la possibile utilità in aggiunta al trattamento abituale. Il principale limite di questi studi è l'impiego di miscele di differenti ceppi batterici, con la conseguente difficoltà a distinguere i probiotici veramente efficaci²⁵. È evidente come siano necessari nuovi studi su campioni clinici e condotti con ceppi batterici selezionati al fine di individuare in maniera mirata quali probiotici possano essere realmente efficaci nel trattamento della depressione.

In conclusione, oltre agli studi che dimostrano l'interazione fra microbiota e sistema nervoso centrale, esiste un corpus di dati che sottolinea come modificare il microbiota influenzi il comportamento e possa pertanto contribuire a trattare efficacemente sintomi e sindromi depressive. Gli studi futuri dovrebbero au-

spicabilmente condurre a sviluppare terapie antibiotiche o probiotiche mirate, in grado di selezionare quelle specie batteriche che attraverso riduzione dell'infiammazione, rafforzamento della barriera intestinale o produzione di fattori di crescita possano costituire un'arma in più nel trattamento degli invalidanti disturbi depressivi.

Bibliografia

- 1 Wittchen HU, Jacobi F, Rehm J, et al. *The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010*. Eur Neuropsychopharmacol 2011;21:655-79.
- 2 Koopman M, El Aidy S; MIDTrauma consortium. *Depressed gut? The microbiota-diet-inflammation triad in depression*. Curr Opin Psychiatry 2017;30:369-77.
- 3 Foster JA, McVey Neufeld KA. *Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression*. Trends Neurosci 2013;36:305-12.
- 4 Rieder R, Wisniewski PJ, Alderman BL, et al. *Microbes and mental health: a review*. Brain Behav Immun 2017;66:9-17.
- 5 Kuwahara A. *Contributions of colonic short-chain fatty acid receptors in energy homeostasis*. Front Endocrinol 2014;5:144.
- 6 Akkashah G, Kashani-Poor Z, Tajaddi-Ebrahimi M, et al. *Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Nutrition 2016;32:315-20.
- 7 Dinan TG, Cryan JF. *Mood by microbe: towards clinical translation*. Genome Med 2016;8:36.
- 8 Sudo N, Chida Y, Aiba Y, et al. *Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice*. J Physiol 2004;558:263-75.
- 9 O'Mahony SM, Clarke G, Borre YE, et al. *Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis*. Behav Brain Res 2015;277:32-48.
- 10 Cryan JF, Dinan TG. *Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour*. Nat Rev Neurosci 2012;13:701-12.
- 11 Diaz Heijtz R, Wang S, Anuar F, et al. *Normal gut microbiota modulates brain development and behavior*. Proc Natl Acad Sci 2011;108:3047-52.
- 12 Clarke G, Grenham S, Scully P, et al. *The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner*. Mol Psychiatry 2013;18:666-73.
- 13 Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, et al. *Correlation between the human fecal*

- microbiota and depression. *Neurogastroenterol Motil* 2014;26:1155-62.
- 14 Jiang H, Ling Z, Zhang Y, et al. *Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder*. *Brain Behav Immun* 2015;48:186-94.
- 15 Zheng P, Zeng B, Zhou C, et al. *Gut microbiome remodeling induces depressive-like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism*. *Mol Psychiatry* 2016;21:786-96.
- 16 Kelly JR, Kennedy PJ, Cryan JF, et al. *Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders*. *Front Cell Neurosci* 2015;9:392.
- 17 Bercik P, Denou E, Collins J, et al. *The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice*. *Gastroenterology*. 2011;141:599-609.
- 18 Emadi-Kouchak H, Mohammadinejad P, Asadollahi-Amin A, et al. *Therapeutic effects of minocycline on mild-to-moderate depression in HIV patients: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial*. *Int Clin Psychopharmacol* 2016;31:20-6.
- 19 Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, et al. *The probiotic *Bifidobacteria infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat*. *J Psychiatr Res* 2008;43:164-74.
- 20 Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, et al. *Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve*. *Proc Natl Acad Sci* 2011;108:16050-5.
- 21 Burokas A, Arboleya S, Moloney RD, et al. *Targeting the microbiota-gut-brain axis: prebiotics have anxiolytic and antidepressant-like effects and reverse the impact of chronic stress in mice*. *Biol Psychiatry* 2017;82:472-87.
- 22 Benton D, Williams C, Brown A. *Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition*. *Eur J Clin Nutr* 2007;61:355-61.
- 23 Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, et al. *Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects*. *Br J Nutr* 2011;105:755-64.
- 24 Steenbergen L, Sellaro R, van Hemert S, et al. *A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood*. *Brain Behav Immun* 2015;48:258-64.
- 25 Pirbaglou M, Katz J, de Souza RJ, et al. *Probiotic supplementation can positively affect anxiety and depressive symptoms: a systematic review of randomized controlled trials*. *Nutr Res* 2016;36:889-98.

DALLA LETTERATURA

a cura di Alberto Pilotto

Gold Miles

Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, et al. *Host-gut microbiota metabolic interactions*. *Science* 2012;336:1262-7.

La composizione e le attività del microbiota intestinale si sviluppano assieme all'individuo ospite fin dalla nascita stabilendo una complessa interazione che è direttamente e indirettamente influenzata dal genoma, dagli aspetti nutrizionali e dallo stile di vita dell'ospite. Oggi sappiamo che il microbiota intestinale è coinvolto nella regolazione di multiple vie metaboliche dell'ospite, dando origine a una serie di "assi" metabolici interattivi che fisiologicamente connettono intestino, fegato, muscolo e cervello. In questo articolo vengono descritte le interazioni metaboliche che nascono dal rapporto tra microbiota intestinale e organismo ospite attraverso una completa revisione della letteratura prodotta sull'argomento. In conclusione, affermano gli autori, la profonda comprensione degli assi metabolici coinvolti nell'interazione tra microbiota intestinale e organismo ospite è il prerequisito fondamentale per sviluppare strategie terapeutiche atte a modificare il microbiota intestinale per combattere le malattie e migliorare la salute dell'ospite.

Last minute

Maffei VJ, Kim S, Blanchard IV E, et al. *Biological aging and human gut microbiota*. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2017;72:1474-82.

Il microbiota intestinale umano gioca un ruolo chiave nel normale funzionamento dei processi fisiologici che comunemente si modificano con l'invecchiamento. Per valutare le variazioni nella composizione del microbiota intestinale in relazione all'età biologica dell'individuo, sono stati studiati 85 soggetti di età compresa tra i 43 ed i 79 anni. L'età biologica dei soggetti è stata valutata mediante la somministrazione di una scala di fragilità a 34 items, mentre la composizione del microbiota intestinale è stata misurata mediante analisi genetica (16S rRNA cDNA) dei campioni fecali dei soggetti inclusi nello studio. I risultati indicano che l'età biologica ma non l'età cronologica si correla con una diminuzione della diversità nella composizione del microbiota intestinale. Inoltre, specifici generi batterici, in particolare *Eggerthella*, *Ruminococcus* e *Coprobacillus* sono maggiormente rappresentati nei soggetti con una maggiore età biologica. Gli autori concludono che l'avanzare dell'età biologica si associa a un aumento della disbiosi intestinale.

Last minute

Bian G, Gloor GB, Gong A, et al. *The gut microbiota of healthy aged chinese is similar to that of the healthy young*. *mSphere* 2017;2:e00327-17.

L'articolo riporta i risultati di un ampio studio condotto in una popolazione di oltre 1000 soggetti attivi e in buona salute residenti in tre città della Cina di età compresa tra i 3 e oltre 100 anni. Le analisi delle sequenze genetiche 16S rRNA dei campioni fecali dei soggetti inclusi nello studio hanno dimostrato che: 1) le maggiori variabilità nei profili di microbiota intestinale si riscontrano nei primi anni di vita e comunque entro i 20 anni; 2) successivamente la composizione del microbiota intestinale varia poco negli individui sani di età adulta e di età anziana; 3) il microbiota dei maschi presenta una variabilità maggiore rispetto alle femmine. Secondo gli autori, la scarsa variabilità nella composizione del microbiota riscontrata nei soggetti attivi e in buona salute di differente età potrebbe essere una conseguenza dello stile di vita attivo e della dieta sana seguita dagli individui reclutati. Tuttavia il disegno cross-sectional dello studio non permette di stabilire la natura causa-effetto di tale relazione. Questa analisi del microbiota intestinale di soggetti sani di diversa età potrà servire come riferimento per lo studio futuro di coorti di soggetti affetti da diverse condizioni patologiche associate alle modificazioni del microbiota intestinale.

Direttore Responsabile
Patrizia Alma Pacini

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

Redazione
Lucia Castelli • lcastelli@pacinieditore.it

Grafica e impaginazione
Massimo Arcidiacono • marcidiacono@pacinieditore.it

Stampa
Industrie Grafiche Pacini • Pisa

© Copyright by Pacini Editore Srl

Finito di stampare presso le IGP, Pisa, Dicembre 2017

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

Cod. 3915138