



MICROBIOMA MICROBIOTA Ricerca & Clinica

Supplemento n. 3 al
n.1/2018

Indice Argomenti

- 1 Il microbiota e il futuro della medicina
M. Pane
- 5 Il ruolo del microbiota intestinale nel paziente con malattia renale cronica. Focus su aspetti pratici di gestione nutrizionale
A. Cupisti

Comitato Scientifico

Claudio Mencacci

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

Alberto Pilotto

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

Andrea Poli

Nutrition Foundation of Italy, Milano

Sergio Riso

S.S. Dietologia e Nutrizione Clinica,
ASL Vercelli

PACINI
EDITORE
MEDICINA

Microbiota intestinale e malattia renale cronica: un nuovo target terapeutico

Simposio – XIX International Congress on Nutrition and Metabolism
in Renal Disease (ICRNM 2018)

IL MICROBIOTA E IL FUTURO DELLA MEDICINA

Marco Pane

Direttore R&S, Biolab Srl

Negli ultimi 15 anni un'ampia mole di studi ha migliorato le conoscenze sul ruolo del microbiota intestinale e sulle sue implicazioni nello sviluppo delle patologie umane.

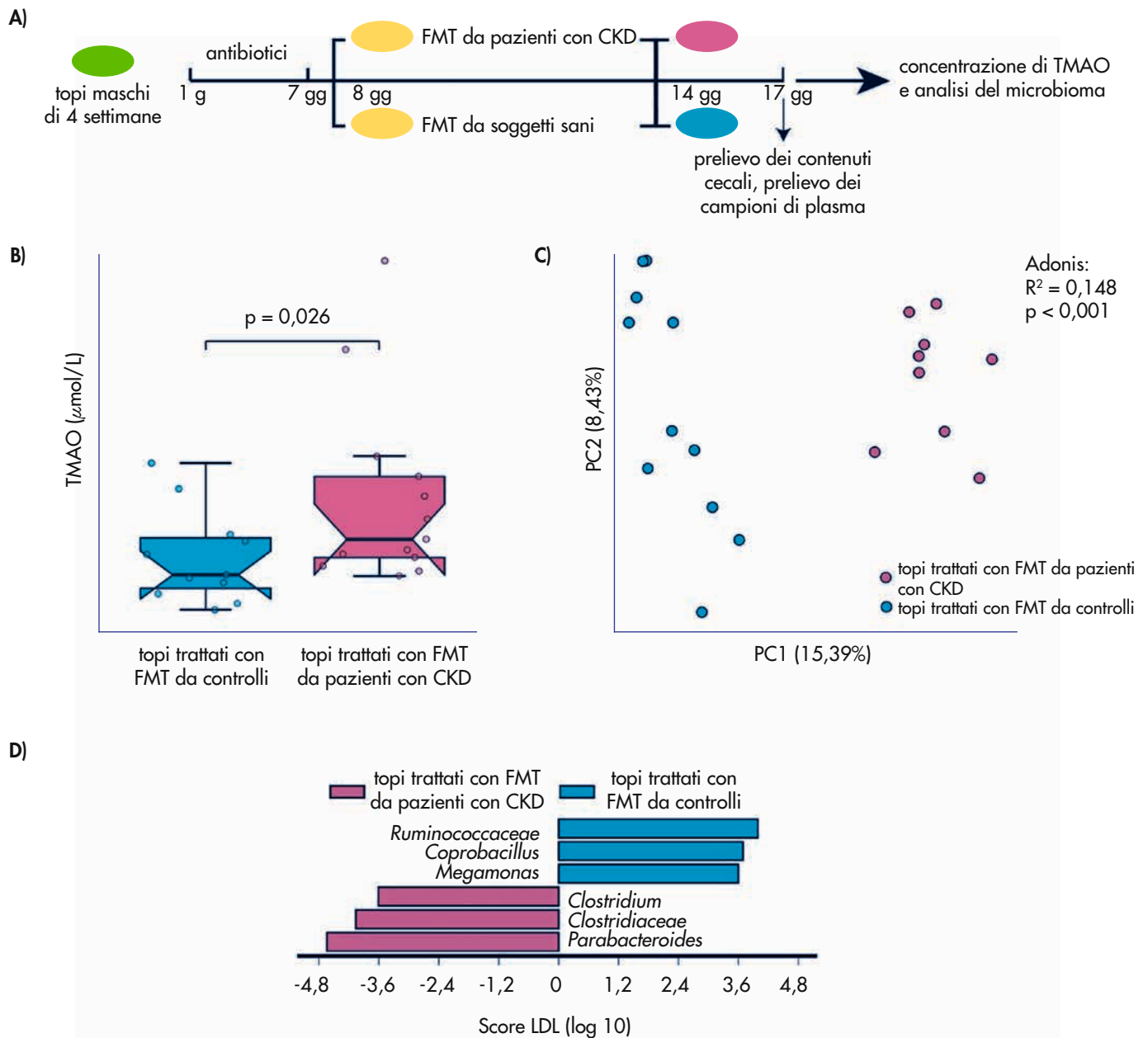
In particolare nel 2012 sono stati pubblicati i risultati generati dallo studio *Human Microbiome Project* (HMP) finanziato dal *National Institutes of Health* (NIH), che hanno identificato il patrimonio genetico dei microrganismi che colonizzano l'organismo, il cosiddetto genoma umano esogeno o microbioma.

Lo studio della composizione, distribuzione e delle competenze funzionali della componente microbica simbiotica ha rivelato la profonda interazione di questa con l'organismo ospite, tanto da poterli concepire come un unico ecosistema integrato dal punto di vista genetico, biochimico, metabolico e fenotipico. La caratterizzazione del microbio-

ma ha rivelato l'esistenza di un'ampia variabilità anche tra soggetti sani e spiegare questa diversità rimane la sfida della ricerca scientifica, sebbene fattori quali la dieta, l'ambiente, la genetica dell'organismo ospite e l'esposizione microbica neonatale siano ritenuti tutti implicati ¹.

Il microbiota è oggi considerato alla stregua di un organo virtuale in costante cambiamento con l'essere umano.

In condizioni fisiologiche esso influenza il benessere dell'ospite contribuendo alla sua nutrizione, metabolismo e funzione immunitaria, mentre la sua alterazione (disbiosi) è stata implicata nella patogenesi di malattie come l'obesità, il diabete tipo 2, le patologie infiammatorie intestinali e cardiovascolari e addirittura neurodegenerative ². La sua adattabilità è essenziale per mantenere l'omeostasi intestinale, ma alterazioni drasti-



CKD: *Chronic Kidney Disease*; FMT: *Faecal Microbiota Transplantation*; LDA: *Linear Discriminant Analysis*; PC: *Principal coordinate analysis*; TMAO: *Trimethylamine-N-oxide*.

FIGURA 1.

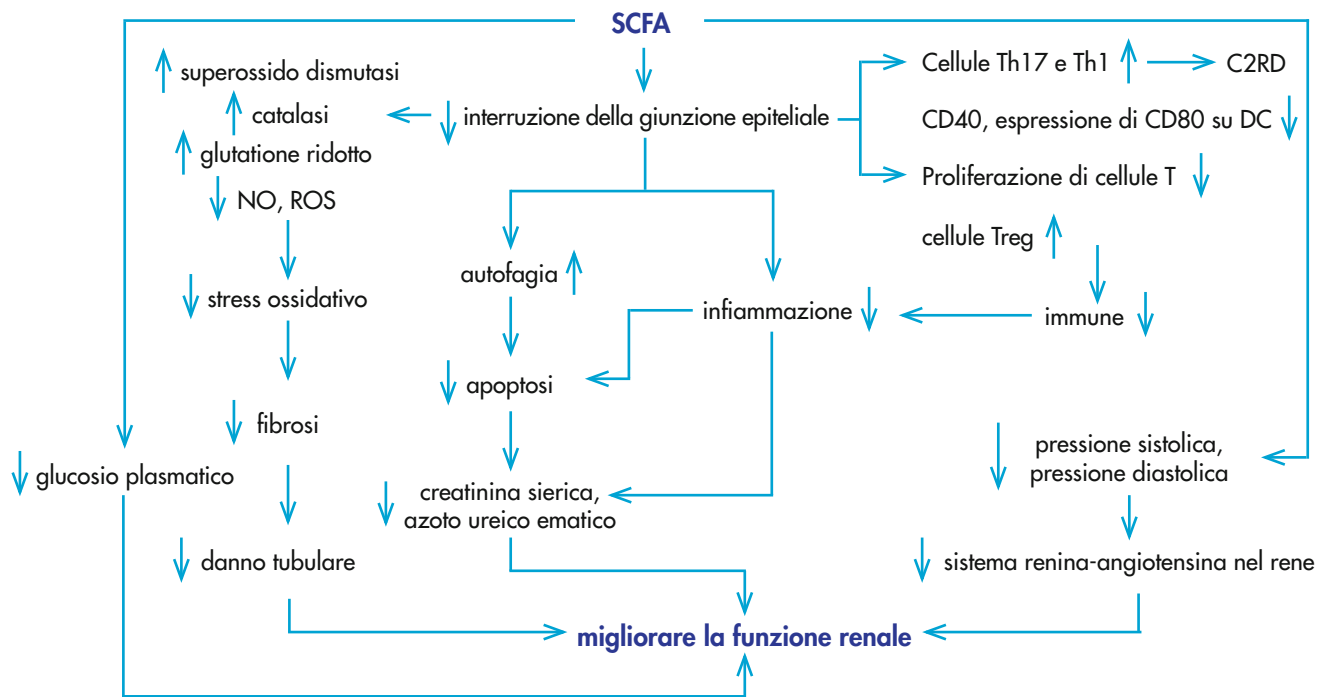
Trapianto di campioni fecali di microbiota da pazienti con malattia renale e da controlli sani in topi pretrattati con antibiotici (da Xu et al., 2017, mod.)⁵.

Dati relativi a 12 topi trapiantati con campioni fecali di controlli sani (celesti) e 13 topi che hanno ricevuto campioni fecali di pazienti con CKD (rosa). A) Disegno dello studio sperimentale. B) Confronto tra i livelli plasmatici di TMAO tra i 2 gruppi di topi dopo trapianto di campioni fecali da pazienti con CKD e da controlli. La significatività tra gruppi è stata calcolata con test U di Mann-Whitney. C) *Principal Coordinate Analysis* che illustra i modelli di raggruppamento dei 2 gruppi di topi in base all'analisi Unifrac non ponderata. Ogni cerchio rappresenta un campione. La distanza tra ogni coppia di campioni rappresenta la loro diversità. D) I taxa significativamente discriminanti tra i 2 gruppi di topi sono stati determinati mediante *Linear Discriminant Analysis Effect Size* (LEfSe). Sono raffigurati solo i taxa che hanno raggiunto la soglia di significatività alla LDA (> 3). Barre di colori diverse rappresentano gruppi differenti.

che, come quelli indotti dagli antibiotici, sono potenzialmente dannosi. Numerosi studi epidemiologici indicano una stretta associazione tra esposizione agli antibio-

tici in epoca infantile e fenotipi patologici in età adulta, suggerendo un ruolo causale per la disbiosi pediatrica del microbiota intestinale.

Nei primi 2-3 anni di vita del bambino, parallelamente alla maturazione del sistema immunitario, il microbioma va incontro a un notevole grado di trasformazione, prima



SCFA: acidi grassi a catena corta; C2RD: C2-induced renal disease; DC: dendritic cells; NO: nitric oxide; ROS: reactive oxygen species.

FIGURA 2.

Benefici degli SCFA sulla funzione renale (da Li et al., 2017, mod.)⁶.

di diventare simile a quello del soggetto adulto. In quest'epoca l'esposizione agli antibiotici altera il normale pattern di evoluzione del microbioma in maniera transitoria o persistente, condizionando altrettante conseguenze immunologiche e cliniche. Negli studi che hanno testato i più comuni antibiotici impiegati in età pediatrica si è osservata una riduzione variabile tra il 30 e l'80% della diversità della flora batterica intestinale dei piccoli pazienti³.

Secondo l'ipotesi igiene la diminuzione delle malattie infettive e l'incremento di quelle allergiche e autoimmuni, osservati nel mondo occidentale con il miglioramento delle condizioni di vita, sarebbero ascrivibili a ridotta esposizione alla biodiversità del mondo microbico, con perdita di unità tassonomiche benefiche del microbiota umano e modifiche della capacità metabolica microbica, a sostegno del concetto che, nel momento in cui si perde la biodiversità, diminuiscono la bioplasticità e la capacità di controbilanciare gli stimoli ambientali in grado di innescare perturbazioni dello stato di salute⁴.

Il rapporto tra microbiota e malattia renale è uno degli argomenti di maggiore interesse, come dimostra il numero di studi clinici recentemente pubblicati o attualmente in corso.

Il microbiota può interferire con la funzione renale mediante propri metaboliti, quali la trimetilammina (TMA) e gli acidi grassi a catena corta (*short chain fatty acids*, SCFA), prodotti a partire da substrati alimentari.

Per il metabolismo di sostanze come la colina, la fosfatidilcolina e la L-carnitina ingerite con la dieta (uova, carne, formaggi), l'organismo umano non possiede un corredo enzimatico endogeno ed esse sono trasformate da specifici microrganismi intestinali in TMA, che viene assorbita in circolo e raggiunge il fegato, dove è ossidata dalla flavin-monoossigenasi (FMO) in ossido-trimetilammina (TMAO), e infine escreta dai reni.

Per la sua azione aterogena la TMAO è oggi riconosciuta come uno dei più importanti fattori di rischio indipendenti per la malattia cardiovascolare, oltre che per lo

sviluppo delle complicanze cardiovascolari tipiche della malattia renale cronica (CKD), ed elevati livelli plasmatici di questo metabolita sono stati correlati a un aumento di eventi avversi cardiaci maggiori (MACE) e della mortalità nella popolazione generale e nei pazienti con CKD⁵.

In uno studio di recente pubblicazione i livelli di TMAO sono risultati significativamente più elevati nei pazienti con CKD, rispetto ai soggetti sani. Il gruppo di pazienti con funzione renale più compromessa (GFR <7 ml/min/1,73 m²) ha rivelato un incremento statisticamente significativo delle concentrazioni di TMAO rispetto al gruppo a GFR più elevato (≥ 7 ml/min/1,73 m²), che a sua volta ha dimostrato concentrazioni di TMAO significativamente aumentate rispetto al gruppo di controllo. Inoltre nei pazienti con CKD si è riscontrata una riduzione significativa della biodiversità del microbiota intestinale rispetto al gruppo di controllo, con una predominanza di batteri appartenenti al gruppo *Proteobacteria*, che esprimono geni coinvolti nel metabolismo di TMA, a

dimostrazione che la compromissione della funzione renale si associa a una disbiosi del microbiota. Infine, trasferendo campioni fecali dei pazienti con CKD e dei controlli sani in topi privi di flora intestinale, in quanto pretrattati con antibiotici a largo spettro, si è osservato che i topi colonizzati con microrganismi intestinali provenienti dai pazienti con CKD sviluppano livelli plasmatici di TMAO significativamente più elevati e una diversa composizione del microbiota intestinale rispetto al gruppo di confronto (Fig. 1). Questo risultato dimostra inequivocabilmente che l'aumento dei livelli di TMAO nei pazienti con CKD è direttamente provocato dalla disbiosi del microbiota, indicando un ruolo essenziale di questo nella produzione di TMAO e nel metabolismo dei pazienti con CKD⁵. Un altro meccanismo con cui il microbiota influenza la funzione renale è la produzione di SCFA, quali acetato, butirato e propionato. Questi composti possono

esclusivamente essere prodotti dal microbiota intestinale per fermentazione saccharolitica di carboidrati complessi, tra cui le fibre alimentari indigeribili. Una volta assorbiti in circolo gli SCFA sono coinvolti in molte vie metaboliche a livello sistemico, influenzando favorevolmente anche la funzione renale. Gli SCFA, infatti, possiedono azione antiossidante, immunoregolatoria, antinfiammatoria, antipertensiva e ipoglicemica, essendo in grado di contrastare una serie di meccanismi patogenetici implicati nel danno renale (Fig. 2)⁶. Sebbene siano necessari ulteriori studi per meglio chiarire la relazione molecolare tra metaboliti derivati dal microbiota intestinale, vie di segnalazione e CKD, tutte le prove disponibili indicano un coinvolgimento di questi nella malattia renale e nella sua progressione, aprendo interessanti prospettive per interventi terapeutici che abbiano come obiettivo la modulazione dell'asse intestino-rene.

Bibliografia

- ¹ The Human Microbiome Project Consortium. *Structure, function and diversity of the healthy human microbiome*. Nature 2012;486:207-14.
- ² Ramezani A, Raj DS. *The gut microbiome, kidney disease, and targeted interventions*. J Am Soc Nephrol Apr;25:657-70.
- ³ Vangay P, Ward T, Gerber JS, Knights D. *Antibiotics, pediatric dysbiosis, and disease*. Cell Host Microbe 2015;17:553-64.
- ⁴ Rook GA, Lowry CA, Raison CL. *Hygiene and other early childhood influences on the subsequent function of the immune system*. Brain Res 2015;1617:47-62.
- ⁵ Xu KY, Xia GH, Lu JQ, et al. *Impaired renal function and dysbiosis of gut microbiota contribute to increased trimethylamine-N-oxide in chronic kidney disease patients*. Sci Rep 2017;7:14445.
- ⁶ Li L, Ma L, Fu P. *Gut microbiota-derived short-chain fatty acids and kidney diseases*. Drug Des Devel Ther 2017;11:3531-42.

IL RUOLO DEL MICROBIOTA INTESTINALE NEL PAZIENTE CON MALATTIA RENALE CRONICA

Focus su aspetti pratici di gestione nutrizionale

Adamasco Cupisti

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa

Il microbiota intestinale esercita importanti funzioni metaboliche modificabili con la dieta, perché utilizza carboidrati e proteine presenti nel lume intestinale. Attraverso la fermentazione saccarolitica, i carboidrati sono convertiti ad acidi grassi a catena corta (*Short Chain Fatty Acids*, SCFA), come acetato, butirato e propionato, che possiedono effetti antinfiammatori e protettivi sulla funzione immunitaria e sull'integrità della barriera intestinale. Invece i prodotti della fermentazione proteolitica, quali fenoli, indolo, ammine e ammonio, sono metaboliti potenzialmente tossici e riducono i livelli circolanti di SCFA.

Nei pazienti con malattia renale cronica (*chronic kidney disease*, CKD) sono state evidenziate alterazioni della composizione del microbiota rispetto ai soggetti sani, con incremento di *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae* e *Clostridium* a discapito di *Lactobacilli* e *Bifidobacteria*. A questo squilibrio del microbiota, o disbiosi, consegue un incremento del metabolismo proteolitico e della produzione di tossine uremiche¹.

La CKD stessa favorisce modifiche del microbiota. L'accumulo di urea nei liquidi corporei ne provoca la diffusione nel lume intestinale, dove è convertita in ammoniaca dalle specie ureasi-positivo, e infine idrolizzata a idrossido di ammonio. Quest'ultimo provoca la distruzione delle *tight junctions*, con danno della barriera epiteliale e aumento della permeabilità intestinale, permettendo il passaggio in circolo di tossine batteriche. Ne consegue l'attivazione di un meccanismo infiammatorio cronico locale e sistemico che induce ulteriore danneggiamento della barriera epiteliale intestinale, innescando un circolo vizioso che favorisce anche la progressione del danno renale (Fig. 1)².

L'intestino umano ospita più di 100 bilioni

(10^{12}) di batteri, costituendo un serbatoio di oltre 1 g di endotossine. Nella CKD il microbiota intestinale è direttamente implicato nell'aumento di tossine uremiche, come risultato di cause iatrogene e della disbiosi indotta dall'uremia stessa, mentre la progressiva compromissione della funzione renale aumenta la concentrazione di tali tos-

sine in circolo, per riduzione dell'escrezione renale. Questo innesca un circolo vizioso che peggiora ulteriormente la malattia provocando insulino-resistenza, malnutrizione proteica, disregolazione immunitaria e aterosclerosi accelerata (Fig. 2)³.

Tra i molteplici fattori in grado di influenzare la composizione del microbiota intestinale la dieta è un elemento cruciale.

La tipica dieta occidentale ricca in grassi e proteine animali fornisce substrati quali tirosina, triptofano, colina e carnitina, selezionando le specie batteriche del microbiota intestinale a metabolismo proteico, con aumento di prodotti di degradazione quali p-cresil solfato (PCS), indoxil solfato (IS) e trimetilammina (TMA), trasformata a livello epatico in trimetilammina-N-ossido (TMAO) (Fig. 3). Tutti questi composti risultano sensibilmente aumentati nei pazienti con CKD e sono considerati marker di malattia e tossine uremiche. PCS e IS sono stati correlati con un aumento della mortalità nei pazienti con CKD, e TMAO, noto fattore aterogeno, è stato associato a un aumento di eventi car-

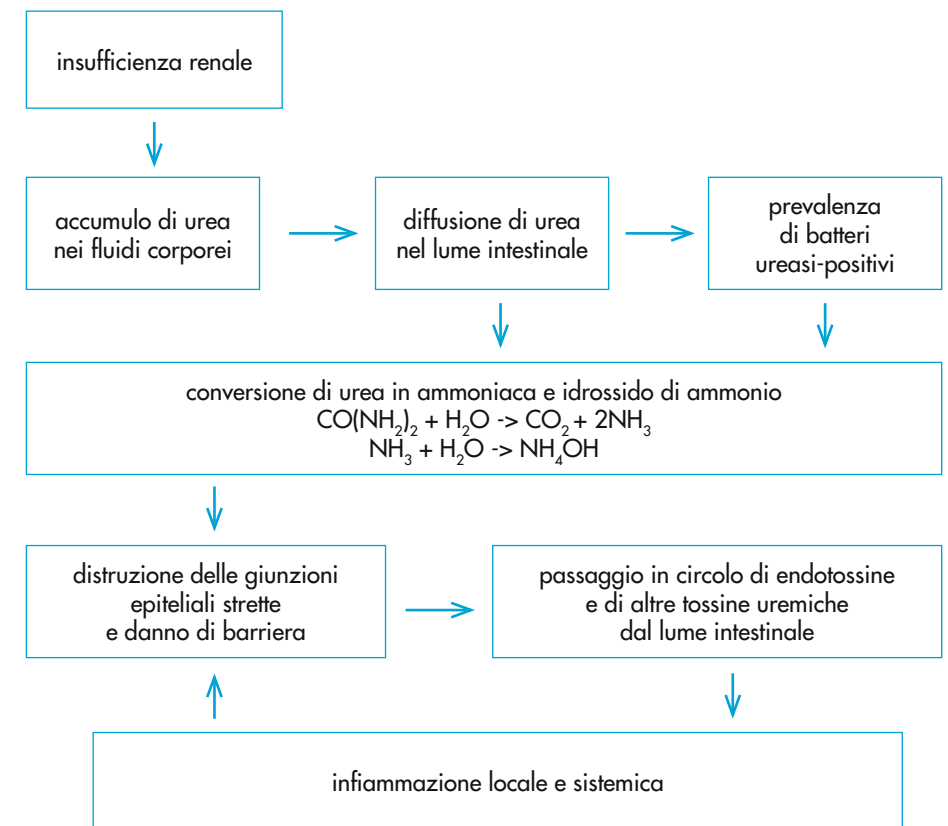


FIGURA 1.

Relazione tra uremia, intestino permeabile, disbiosi del microbiota e infiammazione sistemica nella malattia renale cronica (da Lau e Vaziri, 2017, mod.)².

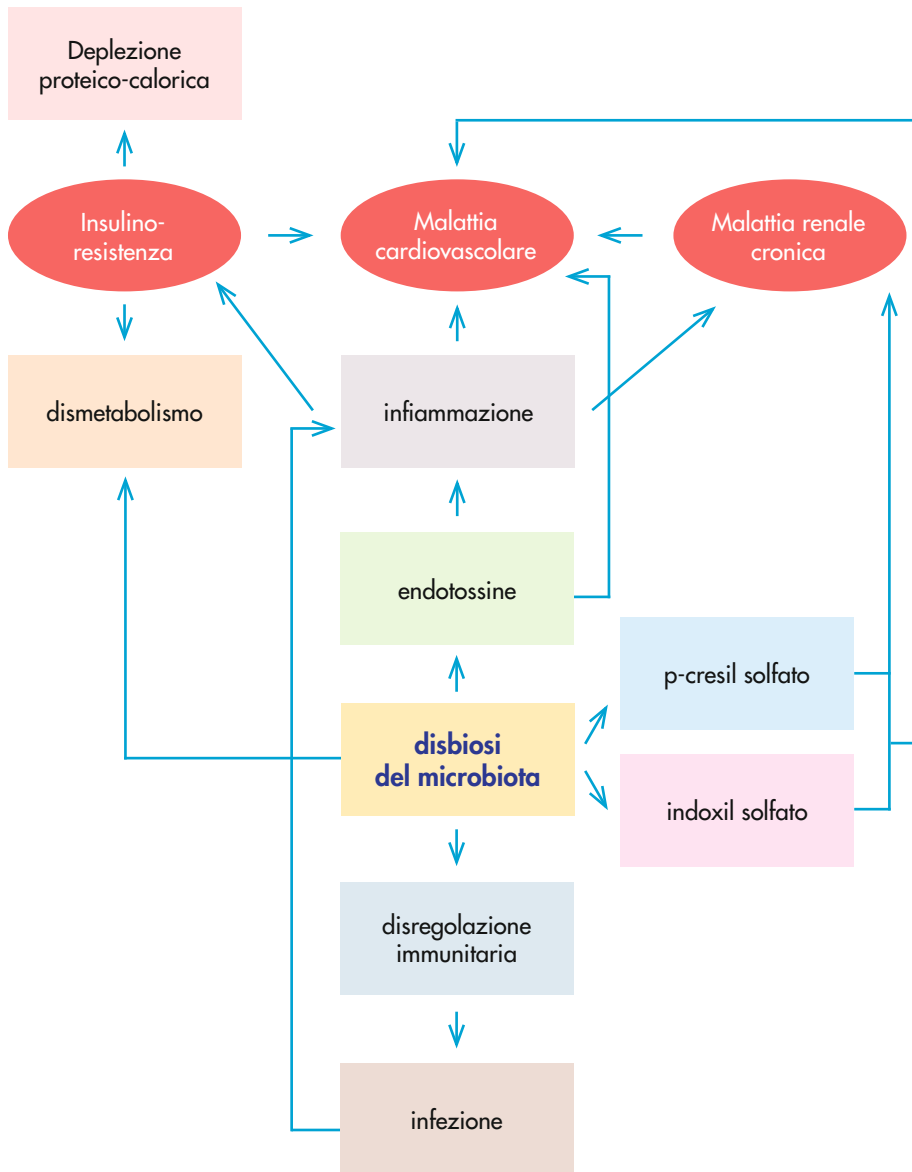


FIGURA 2.

Ruolo delle tossine uremiche di derivazione intestinale nella progressione della CKD e delle sue complicanze (da Ramezani et al., 2014, mod.)³.

diovascolari nella popolazione generale e nei pazienti con CKD⁴. Al contrario i carboidrati complessi come le fibre alimentari e i frutto-oligosaccaridi (FOS), ottenuti per idrolisi dell'inulina di origine vegetale, sono oggi riconosciuti come "prebiotici", ossia capaci di modificare favorevolmente la composizione del microbiota intestinale, stimolando la crescita e l'attività metabolica di microrganismi benefici, quali

Bifidobacteria e *Lactobacilli* a metabolismo saccarolitico. Dati recenti mostrano che le concentrazioni sieriche di PCS e IS sono ridotte dall'assunzione orale di p-inulina nei pazienti con CKD in emodialisi³. Pertanto la dieta può avere un potenziale impatto nel ripristinare la composizione del microbiota e ottimizzare l'omeostasi nei pazienti con CKD. Ancor oggi la die-

ta ipoproteica rimane fondamentale nella terapia dei pazienti con CKD. Le diete a bassissimo contenuto proteico e quelle vegane riducono l'apporto di substrati per la fermentazione proteica e assicurano un alto introito di fibre alimentari, che aumentano la velocità di transito nel colon, diminuendo la produzione e l'assorbimento di tossine uremiche⁵. Secondo dati italiani nei pazienti con CKD non ancora in dialisi che passano da una dieta a modesta restrizione proteica a una a elevata restrizione proteica (0,3 g/kg peso corporeo/die) con supplementazione di aminoacidi essenziali e chetoanaloghi (KA), si ottiene una riduzione del 37% della concentrazione ematica di IS, conseguendo allo stesso tempo un adeguato metabolismo proteico e una bassa produzione di urea⁶. In un recente studio pilota che ha valutato 30 pazienti con CKD non sottoposti a dialisi, la dieta a basso contenuto proteico si è associata a una riduzione significativa del PCS dopo 6 mesi, dimostrandosi una buona strategia per ridurre la produzione di tossine uremiche⁷.

Quindi gli interventi dietetici potenzialmente utili per ripristinare un'adeguata composizione e metabolismo del microbiota intestinale, sia in prevenzione che nelle fasi iniziali della CKD, includono la dieta mediterranea o la DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*), caratterizzate da un elevato apporto di alimenti di origine vegetale ricchi di prebiotici naturali e di fibre e da un ridotto introito di sale, zuccheri raffinati, grassi animali e carni rosse. Invece negli stadi più avanzati di CKD si potrà ricorrere a diete speciali, ipoproteiche, e quindi ricche in carboidrati, e talvolta vegetariane. Inoltre è utile limitare il consumo di prodotti alimentari trasformati, sia perché i moderni processi di conservazione, che hanno lo scopo di eliminare batteri patogeni e garantire la durata nel tempo degli alimenti, riducono l'introito anche di microrganismi commensali benefici per la flora intestinale, sia perché tali prodotti possono costituire fonti "nascoste" di fosfati e sodio⁸.

Infine è noto che l'attività fisica si associa a benefici sul controllo della pressione arteriosa, sul metabolismo del glucosio e dei lipidi e sulla funzione endoteliale. La sedentarietà rallenta il transito intestinale ed evidenze preliminari suggeriscono che l'esercizio si associa a una maggiore diversità del microbiota intestinale e a una riduzione delle componenti patogene. Nel paziente con CKD l'esercizio fisico costituisce uno stimolo

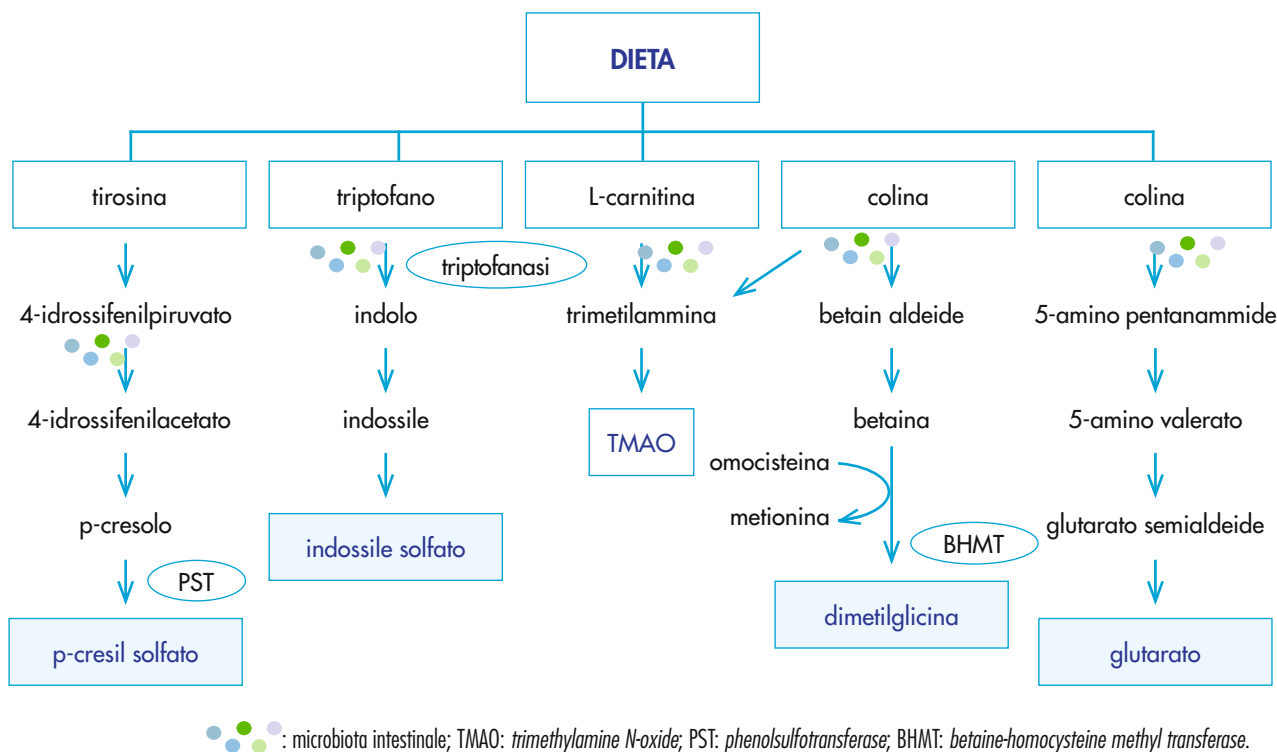


FIGURA 2.

Principali vie metaboliche coinvolte nella produzione di tossine uremiche dai nutrienti a opera del microbiota intestinale (da Koppe et al., 2018, mod.)⁴.

lo anabolico che integra gli interventi nutrizionali per contrastare la perdita di massa magra, influenzando positivamente lo stato nutrizionale e la qualità della vita. Perciò nella gestione dei pazienti con CKD in qualsiasi stadio l'attività fisica regolare dovrebbe essere promossa come parte integrante del piano dietetico-nutrizionale⁸.

Bibliografia

¹ Vaziri ND, Wong J, Pahl M, et al. *Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora*. *Kidney Int* 2013;83:308-15.

² Lau WL, Vaziri ND. *The Leaky Gut and Altered Microbiome in Chronic Kidney Disease*. *J Ren Nutr* 2017;27:458-461.

³ Ramezani A, Raj DS. *The gut microbiome, kidney disease, and targeted interventions*. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:657-70.

⁴ Koppe L, Fouque D, Soulage CO. *The role of gut microbiota and diet on uremic retention solutes production in the context of chronic kidney disease*. *Toxins (Basel)* 2018;10(4). pii: E155.

⁵ Bellizzi V, Cupisti A, Locatelli F, et al.; "Conservative Treatment of CKD" study group of the Italian Society of Nephrology. *Low-protein diets for chronic kidney disease pa-*

tients: the Italian experience. *BMC Nephrol* 2016;17:77.

⁶ Marzocco S, Dal Piaz F, Di Micco L, et al. *Very low protein diet reduces indoxyl sulfate levels in chronic kidney disease*. *Blood Purif* 2013;35:196-201.

⁷ Black AP, Anjos JS, Cardozo L, et al. *Does Low-Protein Diet Influence the Uremic Toxin Serum Levels From the Gut Microbiota in Nondialysis Chronic Kidney Disease Patients?* *J Ren Nutr* 2018;28:208-14.

⁸ Cupisti A, Brunori G, Di Iorio BR, et al. *Nutritional treatment of advanced CKD: twenty consensus statements*. *J Nephrol* 2018;31:457-73.

Direttore Responsabile

Patrizia Alma Pacini

Edizione

Pacini Editore S.r.l.

Via Gherardesca 1 • 56121 Pisa

Info@pacinieditore.it • www.pacini medicina.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

ISSN 2611-5441 (Print) • ISSN 2611-9358 (Online)

Finito di stampare presso le IGP, Pisa, Ottobre 2018

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

Rivista stampata su carta TCF (Total Chlorine Free) e verniciata idro. L'editore resta a disposizione degli aventi diritto con i quali non è stato possibile comunicare e per le eventuali omissioni. Le fotocopie per uso personale del lettore possono essere effettuate nei limiti del 15% di ciascun fascicolo di periodico dietro pagamento alla SIAE del compenso previsto dall'art. 68, commi 4 e 5, della legge 22 aprile 1941 n. 633. Le riproduzioni effettuate per finalità di carattere professionale, economico o commerciale o comunque per uso diverso da quello personale possono essere effettuate a seguito di specifica autorizzazione rilasciata da AIDRO, Corso di Porta Romana n. 108, Milano 20122, segreteria@aidro.org, <http://www.aidro.org>. Per ulteriori approfondimenti fare riferimento al sito web <http://www.pacinieditore.it/privacy/>.