

Il microbiota intestinale

LUCIO CAPURSO¹

¹Primario Emerito di Gastroenterologia.

Pervenuto su invito il 15 marzo 2016.

Riassunto. Il tubo gastrointestinale contiene un grande numero di specie batteriche commensali (non patogene) e patogene che sono co-evolute con il genoma umano e differiscono in composizione e funzione a seconda di sede, età, sesso, etnicità e dieta del loro ospite, che può di fatto essere considerato come un mix di cellule umane e di cellule batteriche. È ormai evidente che il grosso intestino non è soltanto deputato all'escrezione delle feci e all'assorbimento di acqua e sali, ma ha invece un impatto importante sulla salute relata alla specifica composizione del microbiota; rappresenta infatti un sistema aperto che riceve dall'ileo materiale digerito che viene trattenuto per 6-12 ore nel cieco e nel colon destro per essere fermentato dai batteri e mescolato con i prodotti del loro metabolismo. La fermentazione rappresenta il meccanismo di elaborazione finale dei carboidrati e delle proteine con produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA), H₂ e CO₂, ammoniaca, amine, fenoli ed energia. Il microbiota è anche un importante fattore dello sviluppo della risposta immune. L'interazione fra tratto gastrointestinale e microbiota è ben bilanciata nell'individuo sano, ma la rottura di questo equilibrio può portare a malattie intestinali ed extraintestinali.

Parole chiave. Fermentazione, metabolismo batterico, microbiota, SCFA.

Introduzione

Microbi e vertebrati sono evoluti insieme nel corso dei millenni così che il normale funzionamento del sistema digestivo e di quello immune dell'uomo dipende dalla presenza di batteri "benefici" non patogeni: il tratto gastro-intestinale, oltre alla pelle, la bocca, la vagina e le vie respiratorie, è abitato da comunità microbiche particolari con strutture e funzioni specifiche^{1,2}.

Per "microbiota intestinale" si intende l'ecosistema complessivo formato da funghi, virus e batteri che si sono adattati a vivere sulla superficie mucosa dell'intestino o nel suo lume, sviluppandosi immediatamente dopo la nascita, influenzato dalla moda-

First part: the intestinal microbiota.

Summary. The human gastrointestinal tract contains a large number of commensal (non pathogenic) and pathogenic microbial species that have co-evolved with the human genome and differ in composition and function based on their location, as well as age, sex, race/ethnicity, and diet of their host and we can in fact consider the human body as a mix of human and bacterial cells. It is now evident that the large intestine is much more than an organ for waste material and absorption of water, salts and drugs, and indeed has a very important impact on human health, for a major part related to the specific composition of the complex microbial community in the colon. In man, the large gut receives material from the ileum which has already been digested and the contents are then mixed and retained for 6-12 hours in the *caecum* and right colon. Thus, the large intestine is an open system, with nutrients flowing in the *caecum*, and bacteria, their metabolic products, and undigested foodstuffs being excreted as faeces. The anaerobic breakdown of carbohydrate and protein by bacteria is known conventionally as fermentation. In man the major end products are the short-chain fatty acids (SCFA) acetate, propionate, butyrate, the gases H₂ and CO₂, ammonia, amines, phenols and energy, which the bacteria use for growth and the maintenance of cellular function. The microbiota is also an important factor in the development of the immune response. The interaction between the gastrointestinal tract and resident microbiota is well balanced in healthy individuals, but its breakdown can lead to intestinal and extraintestinal disease.

Key words. Bacterial metabolism, fermentation, microbiota, SCFA.

lità del parto (vaginale vs cesareo), dalla nutrizione iniziale (allattamento al seno vs artificiale) e dal genotipo dell'ospite³⁻⁵.

- I funghi costituiscono il micobioma e comprendono *Candida*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* e *Penicillium*. Hanno un ruolo importante grazie alle complesse interazioni funghi-batteri, funghi-funghi e funghi-ospite, che influenzano la salute e, in alcuni casi, le malattie dell'ospite⁶.
- I virus costituiscono il viroma. Nelle feci umane si ritiene siano presenti anche 10⁹ particelle virus-simil per grammo⁷. I batteriofagi sono i virus enterici prevalenti⁸. Si ritiene che i virus influenzino lo stato di salute dell'ospite interferendo con la struttura della comunità e della funzione batterica, ma non è ancora chiaro co-

me questa influenza si eserciti⁹. I dati pubblicati dallo Human Microbiome Project Consortium¹⁰ hanno permesso di studiare con grande accuratezza il microbiota, grazie alla applicazione delle moderne tecniche di studio. Utilizzando le metodologie “omic” è possibile caratterizzare sia la composizione sia la funzione del microbiota intestinale: in particolare DNA (genomica), RNA (transcriptomica) e piccole molecole (metabolomica) per determinare l'abbondanza proporzionale e le possibili funzioni del campione in esame¹¹.

■ I batteri sono procarioti, ovvero organismi unicellulari che non hanno nucleo; nel citoplasma sono contenuti una singola ansa di DNA cromosomico stabile, più altre strutture satelliti, denominate “plasmidi”, elementi genetici mobili che rappresentano un meccanismo per il trasferimento genetico orizzontale nella comunità microbica. La classificazione dei batteri prevede:

- Regno (batteri, eucarioti, archeobatteri)
- Phylum (o “Divisione”)
- Classe
- Ordine
- Famiglia
- Genere
- Specie.

Il microbiota è formato da circa 100 trilioni (10^{14}) di microbi, il cui numero è 10 volte superiore al numero delle cellule eucariotiche del corpo contribuendo a circa 1,5-2 kg del suo peso totale^{12,13}.

Nel corso dei primi 3 anni di vita, l'iniziale diversità microbica si normalizza e tende a restare tale⁶: infatti, nell'adulto la composizione del microbiota tende a essere stabile in condizioni fisiologiche essendo peraltro modulata da diversi fattori, fra cui l'età, l'assunzione di antibiotici e la dieta¹⁴.

L'analisi delle comunità microbiche intestinali ha evidenziato tre varianti, o “enterotipi”, predominanti rappresentati da *Bacteroides*, *Prevotella* e *Ruminococcus*.

Ogni individuo ha una sua impronta digitale batterica, cioè un profilo di specie suo proprio, diverso da quello di altri individui, ma anche un “core” di almeno 57 specie comuni a tutti gli individui; i *fila* dominanti sono solo due, i *Bacteroidetes* e i *Firmicutes*, che costituiscono più del 90% delle categorie filogenetiche presenti nell'intestino umano, almeno nella sua parte distale. In tutti gli individui sono presenti *Bacteroidetes*, *Dorea/Eubacterium/Ruminococcus* come pure *Bifidobacteria*, *Proteobacteria*, *Streptococchi* e *Lactobacilli*¹⁵.

L'insieme dei geni dei batteri viene definito “microbioma”. Il microbioma intestinale consiste di circa 10 milioni di geni¹, che eccedono di più di 400 volte la dimensione del genoma umano che consiste di 23.000 geni circa. In particolare, l'analisi dei geni più frequentemente isolati riguarda in primo luogo l'adesione alle proteine dell'ospite (collagene, fibrinogeno, fibronectina), requisito fondamentale per la possibi-

lità di persistenza di un ceppo batterico nel sistema gastro-intestinale, e in secondo luogo la fermentazione degli zuccheri.

Gli *Archaea* metanogenici *Methanobrevibacter smithii* e *Methanosphaera stadtmanae* rappresentano un'altra costituente del microbiota intestinale, importante per la fermentazione batterica¹⁶.

Il numero e la complessità di questi microbi aumenta gradualmente dallo stomaco al colon, dove i microrganismi raggiungono livelli di 10^{11} - 10^{12} cellule per grammo di contenuto intestinale.

Microbiota e intestino

L'ileo terminale rappresenta una zona di transizione fra il digiuno, che contiene prevalentemente anaerobi facoltativi, e la densa popolazione di anaerobi che si trovano nel colon^{2,17}.

Nell'uomo l'attività motoria dell'ileo terminale e le proprietà fisiologiche e biomeccaniche della giunzione ileo-colica contribuiscono senza dubbio ai gradienti batterici ileo-colici. Concentrazioni di 1×10^{12} CFU/ml si possono trovare nel colon, prevalentemente anaerobi come *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Clostridium*, con un rapporto di 100-1.000:1 con gli aerobi^{2,17}, grazie alle bassissime concentrazioni di ossigeno (figura 1).

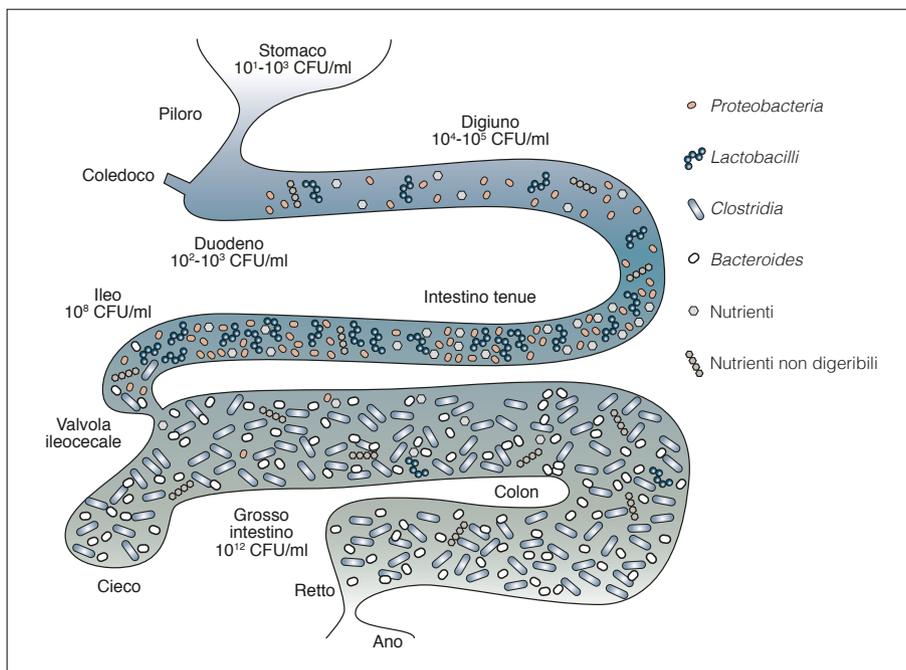
A ogni livello dell'intestino, la composizione del microbiota evidenzia anche variazioni lungo il suo diametro con certi batteri che tendono ad aderire alla superficie mucosa, mentre altri sono predominanti nel lume¹⁸, così che lo studio del solo microbiota fecale perde i batteri aderenti, che hanno certamente un ruolo importante nell'inizio dei processi infiammatori. La motilità intestinale, che comprende le contrazioni sia della muscolatura longitudinale sia di quella circolare, gioca inoltre un ruolo nel determinare la diversità delle popolazioni batteriche al centro del lume e sulle pareti intestinali.

Funzioni del microbiota

La normale interazione fra microbi intestinali e il loro ospite umano è un rapporto simbiotico, benefico per entrambi: l'ospite mette a disposizione un *habitat* ricco di nutrienti e il microbiota conferisce elementi utili alla sua salute.

L'impatto del microbiota sull'anatomia e la fisiologia dell'ospite è evidenziato dalle caratteristiche degli animali germ-free, dovute proprio alla mancata attività dei microbi nell'intestino (tabella 1).

La figura 2 schematizza la mucosa di intestino tenue del feto umano in utero vs neonato. L'intestino fetale (*germ free*) appare sottile e la proliferazione delle cellule epiteliali è lenta, con povertà del tessuto linfoide associato alla mucosa (GALT), mentre l'intestino del neonato manifesta un epitelio diverso e robusto, con un elevato turnover cellulare e un abbondante GALT.



Le figure sono riprodotte a colori nella versione online

Figura 1. Distribuzione del microbiota nel tratto GI. Modificata da Kameda et al.².

Tabella 1. Caratteristiche fisiologiche degli animali germ free.

Riduzione	Incremento
Peso corporeo e degli organi (cuore, fegato, polmoni)	Assunzione di cibo
Gittata cardiaca	Suscettibilità alle infezioni
Consumo ossigeno	
Temperatura corporea	
Linfonodi mesenterici e sistemici	
Tessuto linfatico associato alla mucosa	
Livelli di immunoglobuline sieriche	
Deconiugazione acidi biliari	
Attività ureasica e β-glucuronidasi	

La ricostituzione con un microbiota convenzionale ristabilisce queste deficienze, suggerendo che i batteri intestinali provvedano a importanti e specifici aspetti dell'omeostasi dell'ospite¹⁹.

Le funzioni del microbiota intestinale sono riassunte nella figura 3.

FUNZIONI STRUTTURALI

Vi sono numerose evidenze dell'attività strutturale del microbiota a favore del tratto gastrointestinale:

- *Bacteroides thetaiotaomicron* induce l'espressione della small proline-rich protein 2A (sprp2A), che è necessaria per il mantenimento dei desmosomi dei villi epiteliali²¹;

- il peptidoglicano della parete microbica mantiene l'integrità delle tight junction grazie a un segnale mediato dal TLR2²²;
- *Lactobacillus rhamnosus* GG produce due proteine solubili, p40 e p75, che possono prevenire l'apoptosi delle cellule epiteliali²³;
- *Akkermansia muciniphilia* può incrementare i livelli di endocannabinoidi che controllano la funzione di barriera diminuendo l'endotossemia²⁴;
- il microbiota contribuisce alla struttura della mucosa intestinale inducendo la trascrizione del fattore angiogenina-3, implicato nello sviluppo della microvascolatura intestinale²⁵;
- il microbiota può anche modulare la glicosilazione del muco che fornisce siti di adesione dei microbi sulla superficie cellulare e a livello sub-cellulare. Per esempio, una molecola di segnalazione secreta da *Bacteroides thetaiotaomicron* può stimolare l'espressione del fucoso sulla superficie²⁶;
- la differenziazione delle cellule epiteliali è influenzata da interazioni con i microrganismi, come dimostrato negli animali germ-free.

Il microbiota gioca anche un ruolo essenziale nello sviluppo del sistema immunitario. Come si è già visto, animali germ-free hanno una minore densità di cellule linfoidi nella mucosa intestinale e un inferiore livello di immunoglobuline nel siero. L'esposizione a microbi commensali espande rapidamente il numero di linfociti nelle mucose e incrementa le dimensioni dei centri germinali nei linfonodi, mentre contemporaneamente nella lamina propria appaiono cellule produttrici di immunoglobuline e si ha un significativo incremento nella quantità di immunoglobuline nel siero. I batteri convenzionali inducono, inoltre, cellule-T

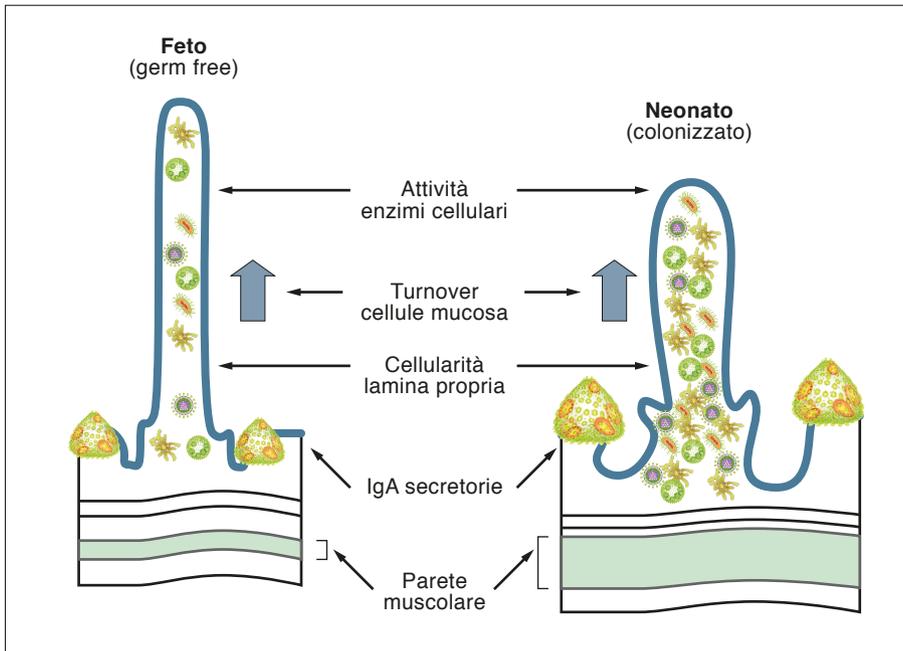


Figura 2. Differenze fra mucosa fetale (*germ free*) e mucosa del neonato (*colonizzato*). Modificata da Walker¹⁸.

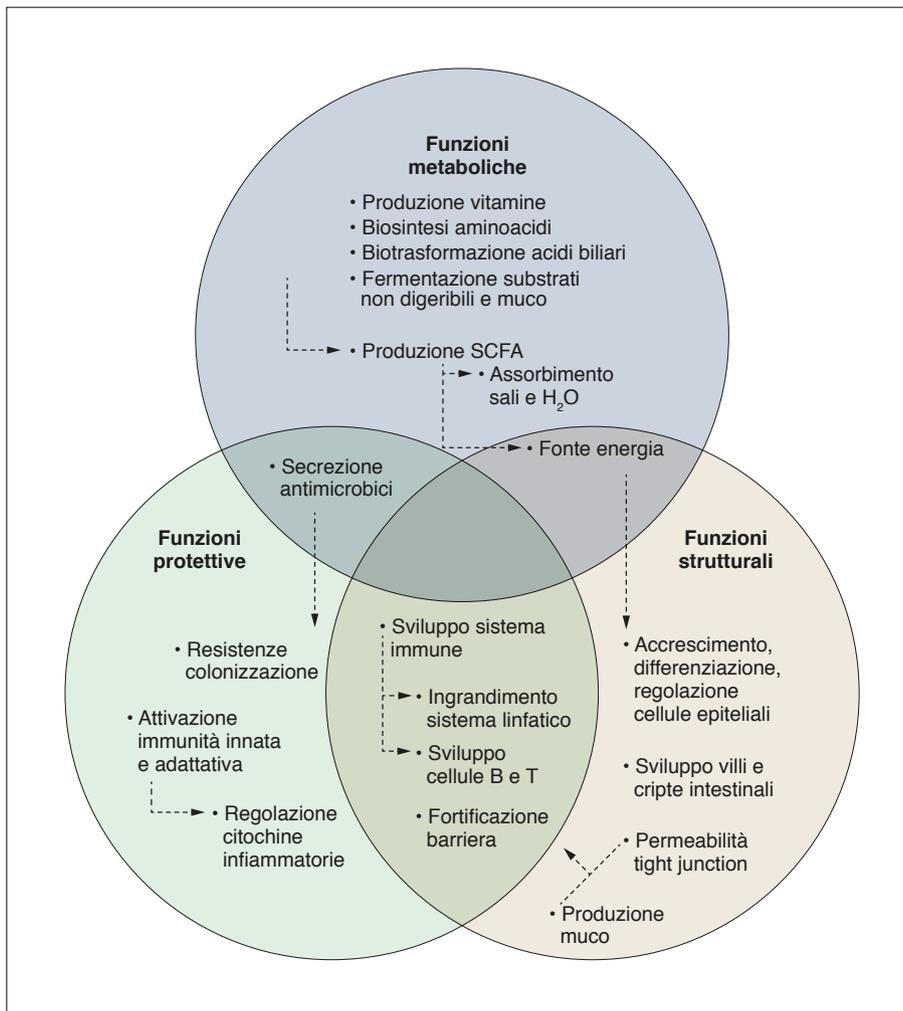


Figura 3. Funzioni del microbiota intestinale. Modificata da Prakash et al.²⁰.

regolatorie nei linfonodi intestinali, essenziali per la tolleranza da parte dell'ospite, senza infiammazione, della massa di antigeni che entrano nell'intestino.

FUNZIONI PROTETTIVE

Una peculiare attività del microbiota è quella di competere con i batteri potenzialmente pericolosi, i patogeni:

1. producendo sostanze in grado di inattivarli²²;
2. alterando il pH intestinale²³;
3. sottraendogli i nutrienti²⁴;
4. mantenendo l'integrità della barriera mucosa, formata da batteri, muco e cellule epiteliali, che costituisce un importante sistema di difesa nei confronti dei fattori potenzialmente immunogenici o patogeni presenti nel lume, dei residui dell'alimentazione e delle secrezioni organiche (salivari, gastriche, pancreatiche, biliari, intestinali)²⁵. La mucosa intestinale rappresenta, dopo quella respiratoria, la più grande superficie del nostro organismo, raggiungendo quella di un campo da tennis, cioè circa 250-400 m² (singolo o doppio); è un importante organo di difesa, disposta come una barriera nei confronti degli antigeni e dei patogeni che arrivano a contattarla o ad attraversarla. L'arma di difesa principale di tale barriera, il tessuto linfatico associato (MALT), è un elemento importante della capacità immunologica complessiva dell'ospite. Differenti componenti del sistema immunitario agiscono per concentrare una specifica risposta contro l'aggressione di un antigene. La principale funzione degli anticorpi secretori, in cooperazione con meccanismi di difesa non immunologici, è di mediare l'esclusione immunitaria di antigeni estranei. L'eliminazione immunitaria coinvolge gli anticorpi e un ampio

numero di mediatori, ritenuti patofisiologicamente responsabili della flogosi locale, attivando il sistema immunitario specifico dell'ospite associato alla mucosa (GALT)²⁶.

Per tollerare il microbiota e utilizzarne i benefici, l'intestino deve mantenere un'attiva sorveglianza sul microbiota e controllarne il numero e la composizione, utilizzando i meccanismi dell'immunità innata e adattativa²⁷. In particolare, le cellule dell'intestino sono equipaggiate con i pattern recognition receptors (PRR), recettori trans membrana, o intracitoplasmatici, capaci di riconoscere specificamente e legare i microbial-associated molecular patterns (MAMP) come lipopolisaccaridi, flagellina, peptidoglicani, peptidi formilati e altri. I PRR includono i toll-like receptors (TLR) trans-membrana, che controllano lo spazio extracellulare, mentre i nod-like receptors (NLR) si occupano del compartimento intracellulare citoplasmatico. I RIG-like helicases e i C-type lectin receptors sono PRR coinvolti rispettivamente nell'individuazione di componenti virali e fungine. I formylated peptide receptors sono un tipo di PRR transmembrana espresso nei neutrofili, con il compito di individuare i prodotti della parete cellulare dei batteri come i peptidi della formaldeide, e di stimolare la funzione dei neutrofili^{28,29}.

La mucosa intestinale è infatti parte integrante della barriera mucosa ed è costituita da tre strati distinti:

- pre-epiteliale, formato dal glicocalix, che crea un sottile strato di muco che ricopre l'epitelio prevenendo il facile accesso alle cellule stesse;
- epiteliale, formato da un singolo strato di cellule epiteliali;
- post-epiteliale, costituito dalla membrana basale (tessuto connettivo, che mantiene in sede l'epitelio) e dalla *muscularis mucosae* (muscolo liscio) (figura 4).

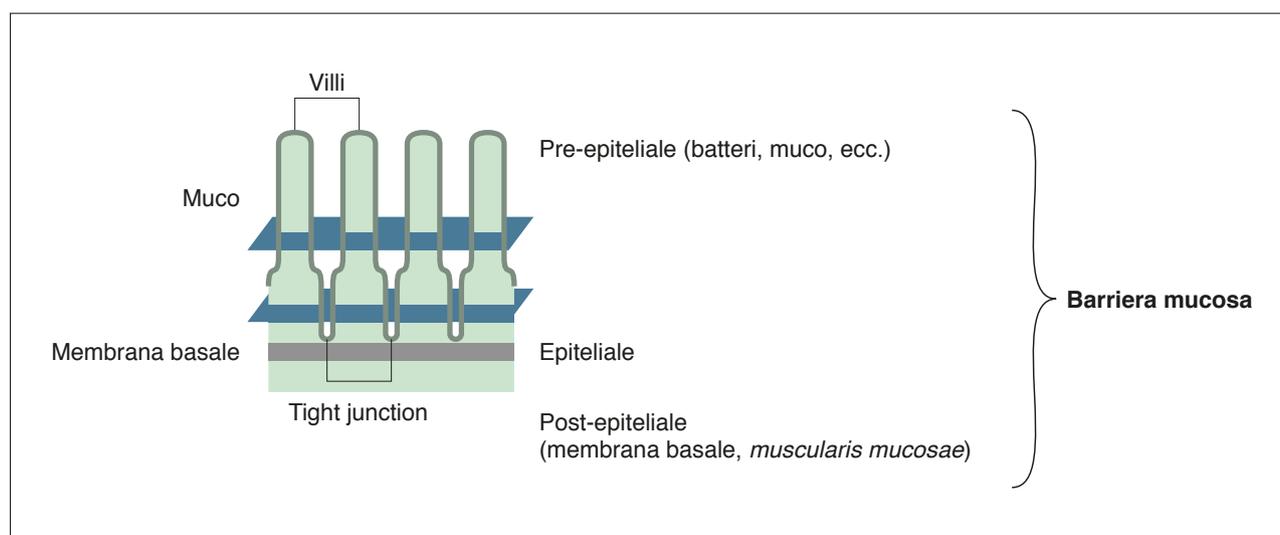


Figura 4. Struttura della mucosa.

FUNZIONI METABOLICHE

Il microbiota intestinale è un organo con grande capacità metabolica che si esplica attraverso la produzione di un grande numero di metaboliti, la maggior parte dei quali prodotti della fermentazione batterica.

Bisogna ricordare che nell'uomo il colon riceve dall'ileo *materiale digerito*, che viene trattenuto nel cieco e nel colon destro per 6-12 ore prima di essere trasportato nel colon sinistro ed emesso con le feci, e *materiale non digerito* da parte degli enzimi idrolitici dell'intestino tenue, che include amido resistente, fibre dietetiche, zuccheri semplici, alcoli, proteine non digerite e substrati endogeni, come cellule epiteliali sfaldate, muco, enzimi intestinali, che vengono fermentati dal microbiota, in particolare da *Bacteroides*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Fecalibacterium* ed *Enterobacteria* che derivano largamente il proprio nutrimento da questa attività^{30,31}.

La capacità metabolica del microbiota intestinale si esplica attraverso:

- la regolazione dei gradienti del pH intestinale: il pH del colon varia da una condizione mediamente acida nel colon prossimale a un pH neutro distalmente. L'accrescimento dei *Bacteroides* è limitata da valori di pH <6.0; i *Firmicutes* sono più tolleranti al pH acido che gli dà un vantaggio competitivo derivante dall'attiva fermentazione dei substrati. Uno spostamento maggiore nella composizione e nell'attività metabolica del microbiota è stato osservato fra pH 5.5 e pH 6.5 in un modello *in vitro*;
- la regolazione dei gradienti dell'ossigeno: un altro fattore che influenza la distribuzione spaziale del microbiota è l'ossigeno. Il lume del colon diventa largamente anaerobico perché gli anaerobi facoltativi consumano l'ossigeno disponibile. La maggior parte dei batteri del colon sono anaerobi obbligati che non crescono a >5×10⁻³ atm di ossigeno, ma *Bacteroides* possono essere "nanaerobi": *B. fragilis* possiede una citocromo *bd* ossidasi che lo rende capace di crescere in presenza di concentrazioni nanomolari di ossigeno, tanto che questi microrganismi sono definiti con il nuovo termine "nanaerobi"³²⁻³⁵. Sebbene la maggior parte dei *Firmicutes* colonici sia considerata strettamente anaerobica, tanto da morire per l'esposizione all'aria di pochi minuti, l'accrescimento di *Faecalibacterium prausnitzii* è in realtà stimolato da concentrazioni molto basse di ossigeno a causa della sua capacità di trasportare elettroni all'ossigeno via flavine e tioli, il che suggerisce che *F. prausnitzii*, come *B. fragilis*, possa sfruttare nicchie attaccate alla mucosa con una esposizione all'ossigeno;
- la conversione e l'utilizzo di componenti dietetici attraverso la loro trasformazione in prodotti finali benefici che influiscono sul pH e interagiscono con le cellule epiteliali della mucosa;
- la trasformazione e/o allontanamento delle sostanze tossiche;
- la produzione di una massa fecale che diminuisce il tempo di transito e diluisce le sostanze tossiche

che influenzano la salute dell'ospite³⁶. È questa la fase colonica del processo digestivo che comprende la rottura dei legami glucosidici dei carboidrati da parte dei batteri con un processo unico del colon umano, poiché avviene senza la disponibilità di ossigeno e ha come risultato la formazione di acidi grassi a catena corta (SCFA), idrogeno, etanolo, succinato, formato metano, CO₂ e l'accrescimento della massa batterica. L'intervento del microbiota intestinale è necessario in particolare per digerire alcuni polisaccaridi e l'amido. Il microbiota converte i polisaccaridi in monosaccaridi e acidi grassi a catena corta (SCFA) che si legano a due recettori proteici-G (GPR41 e GPR43) delle cellule epiteliali e li attivano inducendo il peptide YY. La digestione dell'amido avviene con produzione di H₂, il cui incremento ha effetto di feedback negativo sul processo, facendo entrare in azione altri gruppi batterici, gli *Archaea*, che trasformano l'eccesso di H₂ in metano.

SCFA

La fermentazione dei carboidrati avviene con diverse reazioni biochimiche, la più importante delle quali è la via *Embden-Meyerhof-Parnas* utilizzata prevalentemente da *Lactobacilli* e *Bacteroides*, per cui, dopo la fosforilazione del glucosio, il carboidrato è convertito a piruvato che agisce come chiave intermedia per le successive interazioni metaboliche con produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA). Gli SCFA sono acidi grassi contenenti da 1 a 6 atomi di carbonio disposti in catene lineari o ramificate.

Acetato, propionato e butirato costituiscono il 90-95 % degli SCFA presenti nel colon. Il rapporto molare approssimativo acetato:propionato:butirato è 60:25:15, e rimane costante attraverso le differenti regioni del colon, sebbene le concentrazioni assolute possano variare: massime nel cieco, sono del 40% inferiori nel colon sinistro rispetto al colon destro³⁷.

La quantità di SCFA prodotto varia a seconda dei carboidrati fermentabili considerati^{38,39} che possono anche determinare variazioni della composizione del microbiota. In particolare nell'uomo l'amido resistente è risultato incrementare specificamente il butirato⁴⁰, mentre l'arabinosilano incrementa il propionato⁴¹.

I principali substrati fermentabili nell'intestino sono:

- amido "resistente": 8-40 g/die;
- polisaccaridi non amidacei (NSP): 8-18 g/die;
- oligosaccaridi: 2-8 g/die;
- zuccheri: 2-10 g/die.

La fermentazione dei prebiotici, in particolare dei frutto-oligo saccaridi (FOS), favorisce selettivamente la moltiplicazione fino a 10 volte dei *Bifidobacteria*, senza variare la concentrazione totale degli anaerobi^{42,43}. Questo effetto bifidogenico è responsabile della diminuzione della produzione di sostanze putrefatte e del numero di microbi potenzialmente nocivi (come il *Clostridium perfringens*).

Vengono anche prodotti etanolo, succinato e H₂. In particolare, l'idrogeno agisce come intermediatore della fermentazione, ma non si accumula nel colon e viene velocemente escreto nel respiro e nei flati. Si calcola che circa un litro di idrogeno sia fermentato nel colon dai carboidrati introdotti con una normale dieta occidentale. In realtà raramente i flati raggiungono questa quantità grazie all'attività di alcuni batteri di consumare H₂. In alcuni individui ceppi di *Methanobrevibacter smithii* possono fermentare metano secondo la reazione: $4H_2 + CO_2 = CH_4 + 2H_2O$ diminuendo perciò la produzione di idrogeno. Questo tipo di reazione avviene però soltanto in un terzo dei soggetti e deve essere tenuta in considerazione nella valutazione dei risultati dei *Breath Test* per intolleranza al lattosio^{44,45}.

L'assorbimento degli SCFA nel colon è rapido e arriva al 95%⁴⁶, prevalentemente attraverso carrier apicali come il trasportatore monocarbossilato-1 (MCT1) e il trasportatore monocarbossilato-1 accoppiato al sodio (SMCT1) presenti nelle cellule epiteliali⁴⁷, che contribuiscono a promuovere anche l'assorbimento di Na⁺ e a mantenere l'equilibrio acido-base e l'omeostasi energetica, fornendo approssimativamente il 5-10% della necessità energetica complessiva⁴⁸.

Gli acidi grassi a catena corta hanno proprietà bioattive:

- acetato è un precursore del colesterolo e favorisce teoricamente la produzione del colesterolo LDL;
- acetato inibisce in vitro la glicolisi e stimola la gluconeogenesi;
- propionato ha effetto contrario;
- propionato annulla l'effetto ipercolesterolemizzante dell'acetato inibendo l'HMG-coenzima-A-sintetasi e l'HMG-coenzima-A-riduttasi (HMGCoA=idrossi-metil-glutaril coenzima A).
- propionato ha effetto ipoglicemico; negli animali non diabetici riduce la produzione epatica e rallenta il rilascio di glucosio. Integrando l'alimentazione con propionato per quattro settimane si ottiene una diminuzione significativa della glicemia a digiuno nei soggetti non diabetici e un miglioramento dell'insulinosensibilità, come dimostrato negli studi condotti sui ratti;
- propionato e butirato riducono nell'animale da esperimento le contrazioni segmentarie del colon favorendo in tal modo la progressione aborale del contenuto; una carenza di SCFA potrebbe rappresentare uno dei meccanismi patogenetici della stipsi, mentre sulla stessa base si spiegherebbe l'effetto regolarizzatore dell'alvo di alcune fibre, come quelle solubili, che non aumentano la massa fecale;
- butirato a livello intestinale, regola il trasporto transepiteliale di fluidi, migliora lo stato ossidativo e di infiammazione mucosa, rinforza la barriera mucosa e ostacola la progressione verso il cancro colon rettale;
- butirato a livello extraintestinale esercita effetti migliorativi su molte patologie metaboliche, co-

me ipercolesterolemia, insulino-resistenza e patologie ischemiche⁴⁹;

- butirato libera i peptidi che generano la sazietà, *glucagon-like-1* (GLP-1) e *YY* (PYY), dalle cellule endocrine intestinali-L, almeno in parte agendo come agonista dei recettori 2 e 3 degli acidi grassi e partecipando così all'omeostasi del glucosio, sia nell'animale che nell'uomo⁵⁰;
- butirato può prevenire l'accumulo di metaboliti tossici come il D-lattato⁵¹ prodotto nel colon dai batteri quando i carboidrati non sono assorbiti completamente nel tenue; un eccesso di D-lattato può provocare acidosi metabolica;
- butirato rinforza anche l'integrità della barriera mucosa, attraverso l'incremento della produzione di muco e dell'espressione delle tight junction e l'effetto trofico delle cellule epiteliali, probabilmente mediato da una incretina, il glucagon-like peptide 2 (GLP-2);
- un'alterazione del microbiota e, di conseguenza, della composizione degli SCFA favorirebbe l'obesità indotta dalla dieta e l'insulino-resistenza, mentre l'incremento della produzione di butirato ristabilirebbe la situazione;
- SCFA possono regolare la produzione di prostaglandine, stimolando in tal modo l'espressione di MUC-2 nelle cellule epiteliali intestinali con importante ruolo mucoprotettivo

Altre attività metaboliche del microbiota

LIPIDI

Firmicutes possono sopprimere l'inibizione dell'attività delle lipasi lipoproteiche negli adipociti inducendo in tal modo un accumulo di energia e di grassi con la conseguenza che una abnorme attività del microbiota, associata a una dieta sbilanciata, possa essere causa di accumulo del grasso corporeo^{52,53}. *Bacteroides thetaiotaomicron* aumenta l'efficienza dell'idrolisi lipidica.

PRODUZIONE DI SOSTANZE AD ATTIVITÀ ANTIBIOTICA

Numerosi trasportatori di aminoacidi della parete cellulare batterica facilitano l'entrata degli aminoacidi dal lume intestinale all'interno dei batteri, dove sono trasformati in batteriocine, piccole molecole in grado di produrre segnali e peptidi antimicrobici. Batteriocidine, lattocidine, acidoline, acidolfina, perossido di idrogeno sono altri prodotti ad attività antimicrobica.

Metabolismo di peptidi e proteine

Il microbiota partecipa al metabolismo proteico grazie a un'efficiente via che utilizza proteinasi e peptidasi microbiche insieme a proteinasi umane.

Altri importanti esempi includono la conversione di L-istidina a istamina da parte dell'enzima batterico istamina-decarbossilasi, codificato dai geni batterici *hdcA*⁵⁴ e di glutamato⁵⁵.

Deve essere ricordato che una dieta ricca in proteine e povera in carboidrati altera il microbiota del colon, favorendo un profilo microbico potenzialmente patogeno e pro-infiammatorio, una diminuita produzione di SCFA e una aumentata concentrazione di ammoniaca, fenoli e acido solforico. Questi metaboliti compromettono largamente la struttura dell'epitelio del colon, causando infiammazione della mucosa, ma possono anche interferire sulla modulazione del sistema nervoso enterico e della motilità intestinale.

Un incremento della fermentazione di proteine, come risultato di una assunzione esagerata, può essere compensato dall'aggiunta di oligosaccaridi, amido resistente polisaccaridi non amidacei e dalla riduzione dell'apporto di proteine totali o, in particolare, di aminoacidi aromatici o contenenti zolfo.

Questi fattori possono avere importanza clinica nell'approccio a problemi in cui possa essere implicata la fermentazione proteica come l'emissione di flati maleodoranti, la sindrome dell'intestino irritabile, le malattie infiammatorie intestinali e la prevenzione del cancro del colon-retto⁵⁶⁻⁶⁰.

ACIDI BILIARI

Gli acidi biliari coniugati sono escreti con la bile nell'intestino tenue dove sono deconiugati dalle idrolasi microbiche

SINTESI DI VITAMINE

Si è visto che nell'uomo membri del microbiota intestinale sono capaci di sintetizzare vitamina K e vitamine del gruppo B come biotina, cobalamina, folina, acido nicotinico, acido pantotenico, piridossina, riboflavina e tiamina. Al contrario delle vitamine dietetiche, che sono assorbite nel tratto prossimale dell'intestino tenue, quelle prodotte dai microbi sono assorbite nel colon⁶¹⁻⁶⁵ (tabella 2).

Tabella 2.	
Vitamina	Batteri
Vitamina K	<i>Escherichia coli</i>
Folati	<i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium longum subsp. infantis</i>
Riboflavina	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i>
Cobalamina	<i>Lactobacillus reuteri</i> CRL1098
Niacina Piridossina	<i>Streptococcus thermophilus</i> ST5 <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 <i>Bifidobacterium longum</i> R0175

Metabolismo minerale

Il microbiota intestinale interferisce 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. Meccanismi simili facilitano l'assorbimento del magnesio^{66,67}.

Fermentazione batterica e motilità intestinale

Sono stati identificati 3 meccanismi con cui il microbiota può influenzare la motilità intestinale⁶⁸:

1. attraverso la liberazione di sostanze batteriche o di prodotti terminali della fermentazione batterica;
2. attraverso fattori neuroendocrini intestinali⁶⁹;
3. attraverso, indirettamente, gli effetti di mediatori rilasciati dalla risposta immune intestinale.

Sia nell'animale da esperimento che nell'uomo è stato dimostrato il ruolo potenziale degli SCFA e di altri metaboliti batterici come gli acidi biliari nel generare potenti risposte motorie⁷⁰.

Anche un eccesso di distensione del colon provocato da variazioni quantitative del volume dei gas prodotti dalla fermentazione batterica come anche la iperproduzione di metano possono stimolare le contrazioni.

Recentemente è stata riconosciuta la capacità di componenti del microbiota di elaborare peptidi neurotrasmettitori che stimolano le funzioni motorie e sensoriali dell'intestino e gas come il nitrossido che le inibiscono⁷¹. La perturbazione del microbiota da parte degli antibiotici incrementa l'immunoreattività della sostanza P inducendo ipersensibilità nel colon, mentre certi ceppi hanno la capacità di modulare il dolore intestinale attraverso l'induzione di recettori oppioidi e cannabinoidi

Il tratto GI contiene inoltre la maggior parte della serotonina (5-HT) del corpo e il microbiota gioca un ruolo critico nella sua regolazione. Batteri sporigeni (Sp) presenti nel microbiota murino e umano promuovono la biosintesi da parte delle cellule enterocromaffini del colon (EC) di 5-HT che impatta significativamente la fisiologia dell'ospite modulandone la motilità intestinale^{72,73}.

Conflitto di interessi: l'autore dichiara l'assenza di conflitto di interessi.

Bibliografia

1. Gill SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006; 312: 1355-9.
2. Kamada N, Chen GY, Inohara N, Núñez G. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nat Immunol* 2013; 14: 685-90.
3. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012; 489: 220-30.
4. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, et al. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007; 5: 1556-73.
5. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci* 2010; 107: 11971-5.
6. Underhill DM, Iliev ID. The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nat Rev Immunol* 2014; 14: 405-16.
7. Minot S, Bryson A, Chehoud C, Wu GD, Lewis JD, Bushman FD. Rapid evolution of the human gut virome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 12450-5.
8. Rohwer F. Global phage diversity. *Cell* 2003; 113: 141.
9. Breitbart M, Haynes M, Kelley S, et al. Viral diversity and dynamics in an infant gut. *Res Microbiol* 2008; 159: 367-73.
10. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486: 207-14.
11. Owyang C, Wu GD. The gut microbiome in health and disease. *Gastroenterology* 2014; 146: 1433-6.
12. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005; 307: 1915-20.
13. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005; 308: 1635-8.
14. Faith JJ, Guruge JL, Charbonneau M, et al. The long-term stability of the human gut microbiota. *Science* 2013; 341: 84-7.
15. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human microbiome. *Nature* 2011; 473: 174-80.
16. Gaci N, Borrel G, Totte W, O'Toole PW, Brugère JF. Archaea and the human gut: new beginning of an old story. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 16062-78.
17. Owyang C, Wu GD. The gut microbiome in health and disease. *Gastroenterology* 2014; 146: 1433-6.
18. Walker WA. Bacterial colonization, probiotics, and development of intestinal defense. *Funct Food Rev* 2009; 1: 13-9.
19. Samuel BS, Gordon JI. A humanized gnotobiotic mouse model of host-archaeal-bacterial mutualism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 10011-6.
20. Prakash S, Rodes L, Coussa-Charley M, Tomaro-Duchesneau C. Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics. *Biologics* 2011; 5: 71-86.
21. Lutgendorff F, Akkermans LM, Söderholm JD. The role of microbiota and probiotics in stress-induced gastrointestinal damage. *Curr Mol Med* 2008; 8: 282-98.
22. Cario E, Gerken G, Podolsky DK. Toll-like receptor 2 controls mucosal inflammation by regulating epithelial barrier function. *Gastroenterology* 2007; 132: 1359-13.
23. Yan F, Cao H, Cover TL, et al. Colon-specific delivery of a probiotic-derived soluble protein ameliorates intestinal inflammation in mice through an EGFR-dependent mechanism. *J Clin Invest* 2011; 121: 2242-53.
24. 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.
25. Stappenbeck TS, Hooper LV, Gordon JI. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 15451-5.
26. Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 2001; 292: 1115-8.
27. Artis D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 411-20.
28. Wlodarska M, Willing B, Keeney KM, et al. Antibiotic treatment alters the colonic mucus layer and predisposes the host to exacerbated *Citrobacter* rodentium-induced colitis. *Infect Immun* 2011; 79: 1536-45.
29. Migeotte I, Communi D, Parmentier M. Formyl peptide receptors: a promiscuous subfamily of G-protein-coupled receptors controlling immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006; 17: 501-19.
30. Verbeke KA, Boobis AR, Chiodini A, et al. Towards microbial fermentation metabolites as markers for health benefits of prebiotics. *Nutr Res Rev* 2015; 28: 42-66.
31. Mortensen PB, Clausen MR. Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease. *Scandinav J Gastroenterol* 1996; 216 suppl: 132-48.
32. Cummings JH, Englyst HN, Wiggins HS. The role of carbohydrates in lower gut function. *Nutr Rev* 1986; 44: 50-4.
33. Cummings JH, Englyst HN. Fermentation in the human large intestine and the available substrates. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 1243-55.
34. Macfarlane S, Macfarlane GT. Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc* 2003; 62: 67-72.
35. Baughn AD, Malamy MH. The strict anaerobe *Bacteroides fragilis* grows in and benefits from nanomolar concentrations of oxygen. *Nature* 2004; 427: 441-4.
36. Rowland IR. Toxicological implications of the normal microflora. In: Tannock GW (ed). *Medical importance of the normal microflora*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999.
37. Macfarlane GT, Gibson GR, Cummings JH. Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon. *J Appl Bacteriol* 1992; 72: 57-64.
38. Flint HJ, Bayer EA. Plant cell wall breakdown by anaerobic microorganisms from the mammalian digestive tract. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1125: 280-8.
39. Van den Abbeele P, Gerard P, Rabot S, et al. Arabinoxylans and inulin differentially modulate the mucosal and luminal gut microbiota and mucin-degradation in humanized rats. *Environ Microbiol* 2011; 13: 2667-80.
40. McOrist AL, Miller RB, Bird AR, et al. Fecal butyrate levels vary widely among individuals but are usually increased by a diet high in resistant starch. *J Nutr* 2011; 141: 883-9.
41. Grootaert C, Vanden Abbeele P, Marzorati M, et al. Comparison of prebiotic effects of arabinoxylanoligosaccharides and inulin in a simulator of the human intestinal microbial ecosystem. *FEMS Microbiol Ecol* 2010; 69: 231-42.
42. Louis P, Scott KP, Duncan SH, Flint HJ. Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine. *J Appl Microb* 2007; 102: 1197-208.
43. Louis P, Flint HJ. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate producing bacteria from the human large intestine. *FEMS Microbiol Lett* 2009; 294: 1-8.
44. Macfarlane GT, Macfarlane S. Fermentation in the human large intestine: its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45 Suppl: S120-7.

45. Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and non-starch polysaccharides. *Physiol Rev* 2011; 81: 1031-64.
46. Donohoe DR, Garge N, Zhang X, et al. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon. *Cell Metabolism* 2011; 13: 517-26.
47. Gonçalves P, Martel F. Butyrate and colorectal cancer: the role of butyrate transport. *Curr Drug Metab* 2013; 14: 994-1008.
48. McNeil NI. The contribution of the large intestine to energy supplies in man. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 338-42.
49. Canani RB, Costanzo MD, Leone L, Pedata M, Meil R, Calignano A. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1519-28.
50. Yadav H, Lee JH, Lloyd J, Walter P, Rane SG. Beneficial metabolic effects of a probiotic via butyrate-induced GLP-1 hormone secretion. *J Biol Chem* 2013; 288: 25088-97.
51. Bourriaud C, Akoka S, Goupry S, Robins R, Cherbut C, Michel C. Butyrate production from lactate by human colonic microflora. *Reprod Nutr Dev* 2002; 42: S55.
52. Willemsen LEM, Koetsier MA, van Deventer SJH, van Tol EAF. Short chain fatty acids stimulate epithelial mucin 2 expression through differential effects on prostaglandin E1 and E2 production by intestinal myofibroblasts. *Gut* 2003; 52: 1442-7.
53. Lin HV, Frassetto A, Kowalik E jr, et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *PLoS One* 2012; 7: e35240.
54. Fava F, Lovegrove JA, Tuohy KM, Gibson GR. The potential role of the intestinal gut microbiota in obesity and the metabolic syndrome. *Food Sci Technol Bull* 2008; 5: 71-92.
55. Rosendale D, Cookson A, Roy N, Vetharaniam I. Opportunities for predictive modelling and gut health conceptually exploring an in silico tool for quantifying the benefits of dietary fibre consumption. *Agro Food Industry Hi Tech* 2011; 22: 18-23.
56. Hugenholtz F, Mullaneyd JA, Kleerebezem M, Smidta H, Rosendale D. Modulation of the microbial fermentation in the gut by fermentable carbohydrates. *Bioactive Carbohydrates Dietary Fibres* 2013; 2: 133-42.
57. Wolf G. Gut microbiota: a factor in energy regulation. *Nutr Rev* 2006; 64: 47-50.
58. Backhed F, Ding H, Wang T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 15718-23.
59. Wall R, Ross RP, Shanahan F, et al. Metabolic activity of the enteric microbiota influences the fatty acid composition of murine and porcine liver and adipose tissues. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1393-1401.
60. Thomas CM, Hong T, van Pijkeren JP, et al. Histamine derived from probiotic *Lactobacillus reuteri* suppresses TNF via modulation of PKA and ERK signaling. *PLoS One* 2012; 7: e31951.
61. Hill MJ. Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. *Eur J Cancer Prev* 1997; 6(Suppl 1): S43-S45.
62. Said HM, Mohammed ZM. Intestinal absorption of water-soluble vitamins: an update. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 140-6.
63. Ichihashi T, Takagishi Y, Uchida K, Yamada H. Colonic absorption of menaquinone-4 and menaquinone-9 in rats. *J Nutr* 1992; 122: 506-51.
64. Taranto MP, Vera JL, Hugenholtz J, de Valdez GF, Sesma F. *Lactobacillus reuteri* CRL1098 produces cobalamin. *J Bacteriol* 2003; 185: 5643-7.
65. Feng J, Lee SJ, Resta-Lenert S. Effect of probiotic and commensal bacteria on vitamin D-receptor and calcium transport protein expression in intestinal epithelial cells in vitro. *Gastroenterology* 2005; 128: A-47204.
66. Resta SC. Effects of probiotics and commensals on intestinal epithelial physiology: implications for nutrient handling. *J Physiol* 2009; 587: 4169-74.
67. Dechent WJ, Ketteler M. Magnesium basics. *Clin Kidney J* 2012, 5(Suppl 1): i3-i14.
68. Quigley EMM. Microflora modulation of motility. *J Neurogastroenterol Motil* 2011; 17: 140-7.
69. Barbara G, Stanghellini V, Brandi G, et al. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2560-8.
70. Uribe A, Alam M, Johansson O, Midtvedt T, Theodorsson E. Microflora modulates endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the rat. *Gastroenterology* 1994; 107: 1259-69.
71. Kamath PS, Hoepfner MT, Phillips SF. Short-chain fatty acids stimulate motility of the canine ileum. *Am J Physiol* 1987; 253(4 Pt 1): G427-G433.
72. Kamath PS, Phillips SF. Initiation of motility in canine ileum by short chain fatty acids and inhibition by pharmacological agents. *Gut* 1988; 29: 941-8.
73. Kamath PS, Phillips SF, Zinsmeister AR. Short-chain fatty acids stimulate ileal motility in humans. *Gastroenterology* 1988; 95: 1496-502.