

## **Biomodulatori e disbiosi nelle prime epoche di vita**

**Vito Leonardo Miniello, Lucia Diaferio**

Dipartimento di Assistenza Integrata, Scienze e Chirurgia Pediatrica  
Ospedale Pediatrico “Giovanni XXIII”,  
Università di Bari “Aldo Moro”

### ***Il microbiota intestinale***

Il corpo umano viene legittimamente considerato un “superorganismo” (olobionte) costituito dalle proprie cellule eucariote e da una moltitudine di microrganismi, prevalentemente batterici, che compongono il microbiota.

A partire dalla nascita i batteri colonizzano diversi distretti del nostro organismo con distribuzione sito-specifica: cute, cavità orale e nasale, tratto urogenitale e soprattutto quello gastrointestinale. Il microbiota del canale digerente, prevalentemente dislocato nel colon (microbiota intestinale) è una biomassa di cellule batteriche il cui numero sovrasta di 10 volte quello delle cellule eucariotiche dell’organismo umano. Le comunità microbiche che lo compongono rappresentano un complesso ecosistema il cui metabolismo, insieme al ricco corredo genetico (microbioma), interagiscono con l’organismo ospite attraverso uno stretto rapporto simbiotico. La composizione batterica è pertanto il risultato del sofisticato interplay commensalistico che si stabilisce con l’organismo ospite e nell’ambito delle comunità microbiche. Benchè sostanzialmente stabile nel tempo, il microbiota intestinale si modifica a seguito di fattori fisiologici e patologici.

Il microbiota intestinale riveste un ruolo vitale per l’organismo ospite in considerazione delle sue attività protettiva, trofico-metabolica, detossificante, strutturale e immuno-modulante.

La colonizzazione batterica inizia immediatamente dopo la nascita, costituendo il core di un vero e proprio ‘organo microbico’ metabolicamente ed immunologicamente attivo. Attraverso un processo sequenziale, la composizione del microbiota intestinale si completa entro i primi due anni di vita, rimanendo sostanzialmente stabile nel tempo. Durante le prime epoche di vita un microbiota ‘sano’ e diversificato riveste un ruolo determinante nel processo di maturazione e polarizzazione del sistema immunitario. Il singolo strato di cellule epiteliali intestinali con cui si interfaccia il microbiota rappresenta un dinamico confine tra il self e il non self, fra i contenuti endoluminali e il sottostante tessuto linfoide mucosale (GALT, *Gut-Associated Lymphoid Tissues*). Il continuo “dialogo” tra ecosistema batterico, enterocita e GALT si traduce in una sofisticata funzione immuno-modulante che consolida la barriera mucosale, vantaggiosa prerogativa anatomo-funzionale finalizzata a regolare il traffico di antigeni e discriminarne il passaggio. L’alterazione della barriera mucosale, sistema altamente integrato, comporta un patogenetico concatenamento sequenziale: passaggio indiscriminato di contenuto luminale attraverso le giunzioni epiteliali, rottura della tolleranza orale, insorgenza di infiammazione, danno tissutale.

Benchè a tutt’oggi non vi siano parametri compositivi per connotare come normal healthy un microbiota intestinale, quello di un lattante sano, nato a termine da parto naturale ed esclusivamente allattato al seno, rappresenta il gold standard post-natale (*eubiosi*).

### ***Modalità del parto, eubiosi e disbiosi***

Al momento della nascita, la mamma trasferisce al neonato una buona dose di provvidenziali batteri appartenenti a divisioni (*phyla*) quali *Bacteroidetes* (Batteroidi), *Firmicutes* (Lattobacilli, Clostridi, Enterococchi), Actinobatteri (Bifidobatteri) e Proteobatteri (*Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*). Attraverso il parto naturale avviene, difatti, un “passaggio di consegne” (eredità

microbica) dal microbioma vaginale ed intestinale materno all'intestino sterile del neonato, pronto per essere colonizzato. Nelle prime epoche di vita la sua composizione quali-quantitativa è sensibilmente influenzata da numerosi fattori: modalità del parto (vaginale o cesareo), sede (domiciliare o nosocomiale), tipo di alimentazione (allattamento materno o artificiale, composizione e *timing* dell'alimentazione complementare) e fattori epigenetici.

Il microbioma intestinale dei nati a termine con parto vaginale è simile a quello materno e presenta una vantaggiosa iversità di specie. Nel neonato da mamma cesarizzata invece, oltre ad una minore diversità batterica, si riscontra una sensibile alterazione compositiva (*disbiosi*) caratterizzata dalla prevalenza di germi potenzialmente patogeni quali Proteobatteri (*Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*) e *Clostridium difficile*, nonché dalla ridotta concentrazione di commensali benefici (batteroidi, bifidobatteri e lattobacilli).

Il patten microbico di colonizzazione post-natale e l'alterata composizione (*disbiosi*) del microbiota intestinale del neonato/lattante da parto cesareo sono imputati nell'incrementato rischio di sviluppare malattie allergiche.

L'inadeguata colonizzazione postatale e la disbiosi intestinale, peculiari *hallmark* dei lattanti nati da mamme cesarizzate, ritardano la maturazione della barriera intestinale, favoriscono il passaggio di antigeni batterici e alimentari, determinano un'aberrante funzione immuno-mucosale (disregolazione immunitaria) e uno stato di infiammazione locale. Le citochine pro-infiammatorie IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNFa, prodotte in presenza di clostridi ed *Enterobacteriaceae*, inducono l'apertura delle *tight junction* attraverso l'attivazione del fattore nucleare NFkB, a sua volta facilitatore nella produzione di citochine pro-infiammatorie. Un ritardato e anomalo processo di colonizzazione post-natale e le conseguenti alterazioni del rapporto simbiotico, necessari per il mantenimento dell'omeostasi immunitaria, si riscontrano anche in neonati pretermine e in lattanti sottoposti ad antibiotico-terapia durante le prime epoche di vita.

Il Joint Report FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*)/WHO (*World Health Organization*) definisce **probiotici** "microorganismi vivi che, assunti in quantità adeguata, conferiscono all'organismo ospite effetti benefici sulla salute". Appare evidente la valenza attribuita alla concentrazione batterica e ai vantaggi non relegati al distretto intestinale.

### ***Probiotici e prevenzione delle allergopatie***

Gli effetti benefici di specifici ceppi probiotici nella prevenzione delle malattie atopiche sarebbero riconducibili all'azione vicariante un microbiota alterato quali-quantitativamente. In altre parole, i probiotici sarebbero in grado di mimare l'attività immunomodulante dei commensali del microbiota di un soggetto sano. L'intrigante rationale preventivo, magistralmente esposto nella review di Susan Prescott e Bengt Björkstén, si articola tramite i seguenti meccanismi d'azione:

1. ottimizzazione della composizione del microbiota;
2. incrementata produzione di IgA e di peptidi antimicrobici (defensine, mucine);
3. regolazione delle *tight junction* e conseguente modulazione del transfer antigenico;
4. riduzione della permeabilità intestinale;
5. riduzione della flogosi locale mediata dall'inattivazione del fattore nucleare NFkB;
6. stimolazione delle cellule dendritiche tolerogeniche;
7. induzione della tolleranza immunitaria;
8. inibizione delle risposte Th2 (allergogene);
9. incrementata differenziazione dei linfociti Th1;

10. incrementata produzione di TG F-  $\beta$  e induzione dei linfociti regolatori (Treg).

Va ricordato, tuttavia, che non tutti i probiotici sono uguali: ciascun ceppo è dotato di proprietà peculiari. Pertanto, i relativi effetti non possono essere estrapolati e attribuiti ad altri ceppi. La valenza preventiva della supplementazione perinatale con probiotici e prebiotici in soggetti nati da parto cesareo è stata evidenziata nei lavori di un gruppo di ricerca finlandese. Un'ampia coorte di 1223 gestanti con storia familiare di atopica furono arruolate alla 35<sup>a</sup> settimana e randomizzate per ricevere placebo o una miscela di probiotici fino al termine della gravidanza (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus rhamnosus* LC705, *Bifidobacterium lactis* Bb99, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS). Ai lattanti fu somministrato dalla nascita fino al sesto mese placebo o il mix di probiotici supplementato con prebiotici (galatto-oligosaccaridi). A due anni i simbiotici non riducevano l'incidenza cumulativa delle malattie allergiche e della sensibilizzazione. Ciononostante, nel gruppo attivo fu riscontrata una significativa riduzione di eczema ( $p=0.035$ ) e dermatite atopica ( $p=0,025$ ). Sorprendentemente, però, nel follow-up a 5 anni solo i soggetti nati da parto cesareo (17% dell'intera coorte) presentarono ridotta prevalenza di sensibilizzazione a trofoallergeni e manifestazioni allergiche IgE mediate ( $p=0.37$ ), in particolare dermatite atopica. Inoltre, rispetto al gruppo controllo, solo nei nati da mamme cesarizzate supplementari con probiotici e prebiotici fu riscontrata una maggiore percentuale di bifidobatteri ( $p<0,001$ ).

Pertanto, gli Autori concludono che "Protection is conferred only to cesarean-section babies".

I risultati dello studio suggeriscono un'associazione inversa tra malattie atopiche e colonizzazione intestinale da parte dei probiotici, mediata dalla vantaggiosa modulazione del microbiota intestinale.

### ***Bibliografia essenziale***

1. Hill DA, Artis D. Intestinal bacteria and the regulation of immune cell homeostasis. *Annu Rev Immunol.* 2010; 28: 623–67.
2. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010; 107:11971–5.
3. Weng M, Walker WA. The role of gut microbiota in programming the immune phenotype. *J Dev Orig Health Dis.* 2013; 4: 203–14.
4. Chung H, Kasper DL. Microbiota-stimulated immune mechanisms to maintain gut homeostasis. *Curr Opin Immunol* 2010; 22: 455–60.
5. Walker WA. Initial intestinal colonization in the human infant and immune homeostasis. *Ann Nutr Metab.* 2013; 2: S8-15.
6. Murgas Torrazza R, Neu J. The developing intestinal microbiome and its relationship to health and disease in the neonate. *J Perinatol.* 2011; 31: S29–34.
7. Backhed F, Fraser CM, Ringel Y, Sanders ME, Sartor RB, Sherman PM, et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host Microbe.* 2012; 12: 611–22.
8. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Kubota H, Gawad A, Sakai T, et al. Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS One.* 2013; 8:1-10.
9. Blaser MJ, Falkow S. What are the consequences of the disappearing human microbiota? *Nat Rev Microbiol.* 2009; 7: 887-94.
10. Sjögren YM, Jenmalm MC, Böttcher MF, Björkstén B, Sverremark-Ekström E. Altered early infant gut microbiota in children developing allergy up to 5 years of age. *Clin Exp Allergy.* 2009; 39: 518–26.
11. Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol.* 2014;14:141-53.

12. Goto Y, Ivanov II. Intestinal epithelial cells as mediators of the commensal-host immune crosstalk. *Immunol Cell Biol.* 2013; 91: 204-14.
13. Hansen CH, Andersen LS, Krych L, Metzdorff SB, Hasselby JP, Skov S, et al Mode of delivery shapes gut colonization pattern and modulates regulatory immunity in mice. *J Immunol.* 2014; 193: 1213-22.
14. Thavagnanam S, Fleming J, Bromley A, Shields MD, Cardwell CR. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clin Exp Allergy.* 2008; 38: 629-33.
15. Mårild K, Stephansson O, Montgomery S, Murray JA, Ludvigsson JF. Pregnancy outcome and risk of celiac disease in offspring: a nationwide case-control study. *Gastroenterology.* 2012; 142: 39-45.
16. van Nimwegen FA, Penders J, Stobberingh EE, Postma DS, Koppelman GH, Kerkhof M et al. Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128: 948-55
17. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section. *Gut.* 2014; 63: 559-66.
18. Bisgaard H, Li N, Bonnelykke K, Chawes BL, Skov T, Paludan-Müller G, et al. Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy is associated with increased risk of allergic disease at school age. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128: 646-52.
19. Penders J, Gerhold K, Stobberingh EE, Thijs C, Zimmermann K, Lau S, et al. Establishment of the intestinal microbiota and its role for atopic dermatitis in early childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132: 601-7.
20. Pfefferle PI, Prescott SL, Kopp M. Microbial influence on tolerance and opportunities for intervention with prebiotics/probiotics and bacterial lysates. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 131: 1453-63.
21. Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorrente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab.* 2012; 61:160-74.
22. Prescott SL, Björkstén B. Probiotics for the prevention or treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 120: 255-62.
23. Miniello VL, Colasanto A, Cristofori F, Diaferio L, Ficele L, Lieggi MS, Santoemma V, Francavilla R. Gut microbiota biomodulators when the stork comes by the scalpel. *Clin Chim Acta.* 2015.
24. Kuitunen M, Kukkonen K, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, Tuure T, et al Probiotics prevent IgE-associated allergy until age 5 years in cesarean-delivered children but not in the total cohort. *Allergy Clin Immunol.* 2009; 123: 335-41.