

MICROBIOTA E GENOMICA

Sabrina Giglio, Andrea Perra

SC Genetica Medica e Unità di Oncologia e Patologia Molecolare, Università di Cagliari

Il microbiota intestinale può essere considerato un ecosistema complesso che comprende batteri, virus, protozoi, archei, lieviti e funghi. La sua composizione cambia come le nostre attività metaboliche e fisiologiche, fluttuando durante la vita (Goodrich et al, 2017). Il microbiota intestinale raggiunge una configurazione stabile all'età di 2-3 anni, conferendo a ogni essere umano un peculiare "passaporto" microbico caratterizzato da una relativa abbondanza di ceppi originali. In generale, tutti gli esseri umani hanno un microbiota intestinale i cui phyla principali appartengono a *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (Bäckhed et al, 2005). Nello specifico, più di 50 specie batteriche sono condivise da tutti gli individui appartenenti al genere umano, ma ogni persona ha un suo microbiota specifico e unico, che interagisce con il suo genoma (Goodrich et al, 2017). Pertanto, esiste un corrispondente nucleo batterico funzionale preservato dall'estinzione da un comune metagenoma intestinale umano, necessario per il corretto funzionamento del microbiota intestinale e dell'intestino, e considerato parte di un ecosistema perfetto. Le funzioni codificate in questo metagenoma intestinale umano e batterico includono la regolazione delle interazioni ospite-microbioma, l'assorbimento dei nutrienti e il metabolismo (ad esempio, la degradazione dei polisaccaridi complessi e la sintesi degli acidi grassi a catena corta, considerati il carburante per la crescita e maturazione degli enterociti) (Li et al, 2014). Gli esseri umani, quindi, vivono in simbiosi con il loro microbioma commensale, con molte interazioni bidirezionali complesse e intricate, in cui le varianti genetiche umane possono influenzare la composizione e l'attività del microbioma e, viceversa, le alterazioni del microbioma possono avere un impatto sulla salute umana, modulando la penetranza e l'espressività di tratti patologici umani geneticamente determinati.

Il microbioma non solo secerne nutrienti essenziali e fornisce agli esseri umani una diversità genetica e biochimica dinamica per un rapido adattamento a nuovi ambienti nutrizionali e climatici, ma anche educa e regola il sistema immunitario e può svolgere un ruolo chiave nella modulazione della suscettibilità alle malattie. A sua volta, insieme allo stile di vita, alla dieta e all'età dell'ospite, la variazione genetica umana, generalmente dei geni coinvolti nell'integrità dei tessuti, nell'immunità e nel metabolismo alimentare, può alterare il microambiente abitato da queste specie microbiche e, quindi, creare nicchie più adatte alla colonizzazione di alcuni microbi rispetto ad altri (Boccuto et al, 2023).

Se consideriamo nel complesso l'omeostasi energetica, vediamo che un sottosistema di geni umani coordina questi processi metabolici. È interessante notare che diversi dati della letteratura hanno dimostrato che il microbiota intestinale è in grado di influenzare il bilancio energetico. Ad esempio, i nostri microbi intestinali possono modulare dinamicamente l'efficienza della raccolta di calorie dal cibo ingerito (Barone et al, 2022). I soggetti obesi, per esempio, presentano una minore diversità batterica intestinale e un metagenoma batterico altera-

to. Molti studi derivano da modelli murini, e infatti, nei ratti carenti di leptina (*ob/ob*) vi è uno sviluppo di obesità in base ai cambiamenti a livello di *phylum* nel microbioma intestinale. Nello specifico, vi è una ridotta abbondanza di *Bacteroidetes* e una maggiore abbondanza relativa di *Firmicutes* (Ley et al, 2005). Esistono essenzialmente due paradigmi che descrivono il rimescolamento del microbioma intestinale specifico della persona: effetti della dieta ed effetti della genetica. L'effetto del cibo ingerito sta acquisendo sempre più prove a sostegno del suo forte impatto sul microbioma intestinale. Tuttavia, questo impatto è rapido e si manifesta in pochi giorni (Carmody et al, 2015). Pertanto, il genoma dell'ospite rappresenta un'opportunità affidabile per comprendere questi meccanismi di rimodellamento del microbioma intestinale nel quadro del metagenoma, con possibili implicazioni terapeutiche future per la salute umana e il trattamento delle malattie.

Va da sé, quindi, che la composizione del metagenoma intestinale è molto rilevante per la salute (e la malattia) nell'uomo. La compromissione del cross-talk genomico umano-microbico si associa alla patogenesi di diverse malattie multifattoriali: malattie infettive, malattie metaboliche (come obesità, diabete, ipertensione, steatosi epatica associata a disfunzione metabolica o MAFLD), condizioni infiammatorie e autoimmuni, invecchiamento, cancro e cancerogenesi, e malattie neurodegenerative e neurologiche (Shivaji, 2017).

Le varianti nel genoma umano possono:

- a) guidare l'insorgenza e la progressione di alcune malattie *in situ*, inclusa la malattia infiammatoria intestinale (IBD);
- b) agire a distanza attraverso la produzione di alcuni metaboliti microbici legati all'obesità, all'asma e ad altre malattie, che causano una significativa morbilità e ridotta forma fisica, possibilmente limitando la trasmissione di alleli di suscettibilità negli ospiti permissivi.

Ma in che modo il microbioma intestinale "reagisce" al genoma umano e influenza la struttura e la composizione delle comunità batteriche? E soprattutto, qual è l'effetto di questo impatto sulla salute umana?

Le interazioni del microbioma intestinale e del genoma umano possono essere studiate a livello dei profili del trascrittoma delle cellule immunitarie innate e adattative fino alla regolazione epigenetica dell'espressione delle citochine. Inoltre, possiamo studiare il potenziale effetto delle varianti genetiche su condizioni sane e patologiche immuno-mediate. Ultimi lavori all'avanguardia mostrano l'associazione triangolare tra variazioni del genoma umano, composizione del microbioma intestinale e predisposizione alla salute e alle malattie (Markowitz et al, 2022). Sono state analizzate quasi mille varianti genetiche associate al microbioma intestinale (MAV) e il loro impatto sui fenotipi riportati nelle cartelle cliniche elettroniche di decine di migliaia di individui, principalmente europei.

Questi effetti genetici sono complessi. Certamente un'associazione validata è quella del gene della lattasi (LCT) con abbondanza di *Bifidobacterium* (un membro del *phylum Actinobacteria*) (Lopera-Maya et al, 2022). La disbiosi della microflora intestinale è stata associata a IBD, una malattia fortemente influenzata da fattori genetici. È importante sottolineare che fino a 40 di questi *loci* IBD

influenzano anche la composizione del microbioma (Yilmaz et al, 2019). Negli esseri umani, *NOD2* è un allele di rischio per IBD e le varianti con perdita di funzione *NOD2* sono associate a diverse forme di colite; è interessante notare che gli studi indicano che i membri delle *Enterobacteriaceae* sono arricchiti in individui con varianti *NOD2* associate a IBD. Allo stesso modo, l'*Escherichia coli* invasivo aderente è stato associato a IBD e collegato a varianti nei geni *NOD2*, *ATG16L1* e *IRGM1* (Alula e Theiss, 2023). Un altro caso interessante è quello di *CARD9*, un noto fattore di rischio per IBD nell'uomo, che svolge un ruolo chiave nelle risposte del sistema immunitario antimicotico (Luo et al, 2020).

Simili effetti genetico-microbiomici a due vie sono stati riportati, come già accennato, anche nell'obesità. I modelli di microbioma associato all'obesità mostrano ereditarietà negli studi sui gemelli (monozigoti vs. dizigoti) (Goodrich et al, 2016) e l'obesità è stata associata a diversi taxa microbici ereditabili, fra cui la famiglia *Christensenellaceae*, *Methanobrevibacter smithii*, il genere *Blautia* e la specie *Akkermansia muciniphila* (associazione negativa). La presenza di *Christensenellaceae* nell'uomo dipende per circa il 40% dalla composizione genetica dell'ospite, rendendola uno dei batteri umani più ereditari attualmente identificati. Questi risultati forniscono una notevole evidenza della variazione genetica dell'ospite, che influenza il microbioma commensale umano in modo ereditabile e contribuisce ulteriormente alla malattia e alla forma fisica complessiva dell'ospite stesso. Un altro esempio della relazione tra MAV, disbiosi intestinale e malattia è lo SNP *rs9357092* (G), localizzato nella regione non tradotta a valle del gene *HLA-G* non classico, associato a un aumentato rischio di sclerosi multipla e a una ridotta abbondanza della famiglia delle *Coriobacteriaceae*, un commensale del microbiota orale, intestinale e genitale (Markowitz et al, 2022). Il MAV *rs11751024* (localizzato sempre all'interno della regione HLA) ha queste associazioni cliniche: psoriasi, celiachia e diabete di tipo 1. Pertanto, un aumento del rischio di malattie cardiovascolari e diabete è associato a una ridotta concentrazione di *Lachnospiraceae* (CAG-882) (Leonard et al, 2021).

È interessante notare che esiste inoltre un'interazione tra miRNA e microbiota intestinale nei pazienti obesi (Assmann et al, 2020). Il miRNA è una piccola molecola di RNA non codificante endogena, con 18-25 nucleotidi, che è in grado di regolare l'espressione genica attraverso la degradazione degli mRNA o l'inibizione della sua traduzione. Ventisei diversi miRNA e 12 specie microbiche hanno mostrato una correlazione significativa nei soggetti obesi. In particolare, tre miRNA (vale a dire *miR-130b-3p*, *miR-185-5p* e *miR-21-5p*) sono inversamente correlati alla concentrazione di *Bacteroides eggertii*. Più specificamente, questi miRNA regolano i geni coinvolti nella degradazione degli acidi grassi, nella segnalazione dell'insulina e nel metabolismo lipidico del glicerolo. Questi miRNA hanno anche un impatto sulla regolazione del BMI (Assmann et al, 2020).

Sulla base di tutte queste informazioni è ben noto che meccanismi epigenetici e non del microbioma intestinale sul genoma umano possono essere ampiamente considerati il primo indizio dell'esistenza del metagenoma intestinale.

Ma rimangono ancora delle domande in sospeso. In che modo le prove correlate ottenute finora possono essere trasformate in relazioni causa-effetto di malattia? Come districhiamo le relazioni a tre vie tra la genetica umana, il microbioma e i fattori ambientali per comprendere appieno la causalità e la pro-

gressione della malattia clinica associata al microbioma? Come si possono identificare specifici marcatori per la progettazione di nuovi strumenti e standard di valore clinico per la prevenzione, la diagnosi, il trattamento e il recupero da malattie in cui si ritiene che il microbioma svolga un ruolo?

Comprendere i ruoli specifici svolti dal microbioma intestinale nella nostra crescita e sviluppo, nonché come funziona nella salute e nella malattia, può migliorare molti aspetti della nostra vita quotidiana, dalla formula alimentare già nei primi anni di vita alla disponibilità di nuovi approcci nella lotta verso molte patologie complesse, come l'obesità e il cancro. Poiché il microbiota/microbioma intestinale è un argomento complesso, la ricerca ha la necessità di concentrarsi su approcci multidisciplinari, tenendo conto delle recenti innovazioni tecnologiche per lo studio delle scienze omiche nella medicina di precisione, in cui il microbioma gioca un ruolo fondamentale.

Bibliografia

- Alula KM, Theiss AL. Autophagy in Crohn's Disease: Converging on Dysfunctional Innate Immunity. *Cells*. 2023 Jul 4;12(13):1779. doi: 10.3390/cells12131779.
- Assmann TS, Cuevas-Sierra A, Rieu-Boj JI, Milagro FI, Martínez JA. Comprehensive Analysis Reveals Novel Interactions between Circulating MicroRNAs and Gut Microbiota Composition in Human Obesity. *nt J Mol Sci*. 2020 Dec 14;21(24):9509. doi: 10.3390/ijms21249509.
- Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005 Mar 25;307(5717):1915-20. doi: 10.1126/science.1104816.
- Barone M, Garelli S, Rampelli S, Agostoni A, Matysik S, D'Amico F, Krautbauer S, Mazza R, Salituro N, Fanelli F, Iozzo P, Sanz Y, Candela M, Brigidi P, Pagoggi U, Turroni S. Multi-omics gut microbiome signatures in obese women: role of diet and uncontrolled eating behavior. *BMC Med*. 2022 Dec 27;20(1):500. doi: 10.1186/s12916-022-02689-3.
- Boccuto L, Tack J, Ianiro G, Abenavoli L, Scarpellini E. Human Genes Involved in the Interaction between Host and Gut Microbiome: Regulation and Pathogenic Mechanisms. *Genes (Basel)*. 2023 Mar 31;14(4):857. doi: 10.3390/genes14040857.
- Carmody RN, Gerber GK, Luevano JM Jr, Gatti DM, Somes L, Svenson KL, Turnbaugh PJ. Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *ell Host Microbe*. 2015 Jan 14;17(1):72-84. doi: 10.1016/j.chom.2014.11.010.
- Goodrich JK, Davenport ER, Clark AG, Ley RE. The Relationship Between the Human Genome and Microbiome Comes into View. *Annu Rev Genet*. 2017 Nov 27;51:413-433. doi: 10.1146/annurev-genet-110711-155532.
- Goodrich JK, Davenport ER, Beaumont M, Jackson MA, Knight R, Ober C, Spector TD, Bell JT, Clark AG, Ley RE. Genetic Determinants of the Gut Microbiome in UK Twins. *Cell Host Microbe*. 2016 May 11;19(5):731-43. doi: 10.1016/j.chom.2016.04.017.
- Leonard MM, Valitutti F, Karathia H, et al. Microbiome signatures of progression toward celiac disease onset in at-risk children in a longitudinal prospective cohort study. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Jul 20;118(29):e2020322118. doi: 10.1073/pnas.2020322118.
- Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Aug 2;102(31):11070-5. doi: 10.1073/pnas.0504978102.
- Li J, Jia H, Cai X, Zhong H, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol*. 2014 Aug; 32(8):834-41. doi: 10.1038/nbt.2942. Epub 2014 Jul 6.
- Lopera-Maya EA, Kurilshikov A, van der Graaf A, et al. Effect of host genetics on the gut microbiome in 7,738 participants of the Dutch Microbiome Project. *at Genet*. 2022 Feb; 54(2):143-151. doi: 10.1038/s41588-021-00992-y.
- Luo P, Yang Z, Chen B, Zhong X. The multifaceted role of CARD9 in inflammatory bowel disease. *Cell Mol Med*. 2020 Jan; 24(1):34-39. doi: 10.1111/jcmm.14770.
- Markowitz RHG, LaBella AL, Shi M, Rokas A, Capra JA, Ferguson JF, Mosley JD, Bordenstein SR. Microbiome-associated human genetic variants impact genome-wide disease risk. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2022 Jun 28;119(26):e2200551119. doi: 10.1073/pnas.2200551119.
- Shivaji S. We are not alone: a case for the human microbiome in extra intestinal diseases. *Gut Pathog*. 2017 Mar 7;9:13. doi: 10.1186/s13099-017-0163-3.
- Yilmaz B, Juillerat P, Øyås O, et al. Microbial network disturbances in relapsing refractory Crohn's disease. *Nat Med*. 2019 Feb;25(2):323-336. doi: 10.1038/s41591-018-0308-z.



Fondazione
Alessandra Graziottin onlus
PER LA CURA DEL DOLORE NELLA DONNA

www.fondazionegraziottin.org

MICROBIOTA, INFIAMMAZIONE E DOLORE NELLA DONNA



**"L'essenziale
è invisibile agli occhi"**

*(Antoine de Saint-Exupéry,
Il piccolo Principe)*

MILANO 13 settembre 2023

ATTI E APPROFONDIMENTI DI FARMACOLOGIA

A cura di Annamaria Colao, Alessandra Graziottin, Vincenzo Stanghellini

08:45-09:00	Presentazione del corso e benvenuto ai partecipanti Annamaria Colao, Alessandra Graziottin, Vincenzo Stanghellini
09:00-11:05	Microbiota intestinale e salute della donna: lo scenario chiave in dieci letture - Parte prima
	Introducono: Alessandra Graziottin, Vincenzo Stanghellini, Linda Vignozzi
09:00-09:25	Microbiota intestinale: dalla ricerca alla rivoluzione nella pratica clinica Vincenzo Stanghellini (Bologna)
09:25-09:50	Microbiota intestinale e contraccuzione ormonale Giovanni Grandi (Modena)
09:50-10:15	Microbiota intestinale e sindrome metabolica Annamaria Colao (Napoli)
10:15-10:40	Microbiota intestinale e disendocrinie Linda Vignozzi, Elisa Maseroli (Firenze)
10:40-11:05	Microbiota intestinale, bioritmi e dolore Alessandra Graziottin (Milano)
11:05-11:30	Coffee-break
11:30-13:00	Tavola rotonda: Microbiota e metabolismo ormonale
	Moderatori: Giovanni Grandi, Anna Maria Paoletti
11:30-11:45	Adolescenti, junk food, disbiosi e policistosi ovarica: quali legami Alessandra Graziottin (Milano)
11:45-12:00	Disbiosi ed endometriosi Silvia Baggio (Verona)
12:00-12:15	Microbiota vulvovaginale e contraccuzione ormonale Angela Cuccarollo (Verona)
12:15-12:30	Microbiota vulvovaginale e testosterone: quali relazioni Elisa Maseroli (Firenze)
12:30-12:45	Microbiota intestinale e terapie ormonali sostitutive Anna Maria Paoletti (Cagliari)
12:45-13:00	Discussione
13:00-13:45	Lunch
13:45-15:50	Microbiota intestinale e salute della donna: lo scenario chiave in dieci letture - Parte seconda
	Introducono: Sabrina Giglio, Filippo Murina, Alberto Revelli
13:45-14:10	Microbiota e genomica Sabrina Giglio (Cagliari)
14:10-14:35	Microbiota intestinale, vaginale, endometriale: impatto sulla fertilità Alberto Revelli (Torino)

14:35-15:00	Disbiosi e gravidanza Nicoletta Di Simone (Milano)
15:00-15:25	Disbiosi: la sfida della candidiasi recidivante vaginale Filippo Murina (Milano)
15:25-15:50	Probiotici pre- e post-operatori e outcome chirurgico Stefano Uccella (Verona)
15:50-16:50	Tavola Rotonda: Disbiosi uroginecologiche e infezioni recidivanti. Con flash sull'igiene intima
	Moderatori: Nicoletta Di Simone, Filippo Murina
15:50-16:05	Disbiosi intestinale e biofilm patogeni nelle cistiti Daniele Grassi (Modena)
16:05-16:20	Herpes recidivante, HPV vulvovaginale e disbiosi: quale legame Francesco De Seta (Trieste)
16:20-16:35	Microbiota vulvovaginale e perineale: ruolo dell'igiene intima Alice Guarano (Milano)
16:35-16:50	Discussione
16:50-19:05	Tavola Rotonda: Disbiosi, menopausa e impatto clinico
	Moderatori: Alessandra Graziottin, Francesco De Seta, Stefano Uccella
	Parte prima - Dopo un tumore al seno: come curare la sindrome genitourinaria della menopausa
16:50-17:05	Microbiota vaginale e terapie biofisiche Filippo Murina (Milano)
17:05-17:20	Atrofia, disbiosi vulvovaginale e ossigenoterapia Maggiorino Barbero (Torino)
17:20-17:35	Disbiosi e atrofia vulvovaginale / GSM: ruolo dell'ospermifene Dario Recalcati (Milano)
17:35-17:50	Disbiosi vulvovaginale e riabilitazione uroginecologica Fabiana Giordano (Napoli)
	Parte seconda - Post menopausa: disbiosi e fragilità
17:50-18:05	Disbiosi e fragilità: inquadramento generale Roberta Scairati (Napoli)
18:05-18:20	Diagnostica integrata per sarcopenia e osteopenia Antonio Gianluca Castellaneta (Milano)
18:20-18:35	I probiotici come alleati sistemicci anti-fragilità Francesco De Seta (Trieste)
18:35-18:50	Probiotici, integratori e strategie anti-age Alessandra Graziottin (Milano)
18:50-19:05	Discussione
19:05-19:15	Conclusioni e compilazione questionario ECM

I N D I C E

Presentazione	Pag. 06
Ringraziamenti	Pag. 09
Microbiota intestinale: dalla ricerca alla rivoluzione nella pratica clinica	Pag. 10
Microbiota intestinale e disendocrinie	Pag. 15
Microbiota intestinale, bioritmi e dolore	Pag. 19
Adolescenti, junk food, disbiosi e policistosi ovarica: quali legami	Pag. 27
Endometriosi e disbiosi	Pag. 39
Microbiota vulvo-vaginale e contraccezione ormonale	Pag. 45
Microbiota vulvovaginale e testosterone: quali relazioni	Pag. 57
Microbiota intestinale e terapie ormonali sostitutive	Pag. 61
Microbiota e genomica	Pag. 65
Microbiota intestinale, vaginale, endometriale: impatto sulla fertilità	Pag. 69
Disbiosi e gravidanza	Pag. 74
Disbiosi: la sfida della candidiasi recidivante vaginale	Pag. 79
Probiotici pre- e post-operatori e outcome chirurgico	Pag. 82
Disbiosi intestinale e biofilm patogeni nelle cistiti	Pag. 86
Herpes recidivante, HPV vulvovaginale e disbiosi: quale legame	Pag. 92
Microbiota vulvovaginale e perineale: ruolo dell'igiene intima	Pag. 96
Microbiota vaginale e terapie biofisiche	Pag. 102
Atrofia vaginale da carenza estrogenica: trattamento coniugato con ossigeno normobarico e acido ialuronico	Pag. 105

Disbiosi vulvovaginale e sindrome genitourinaria della menopausa: ruolo dell'ospemifene	Pag. 109
Disbiosi vaginale: ruolo della riabilitazione uroginecologica	Pag. 112
Disbiosi e fragilità nella donna	Pag. 114
I probiotici come alleati sistemici anti-fragilità	Pag. 119
Probiotici, integratori e strategie anti-age: focus sui connettivi	Pag. 125

APPROFONDIMENTI DI FARMACOLOGIA

Microbioma intestinale: evoluzione dei metodi di studio e indicazioni per il clinico	Pag. 135
Microbiota vaginale e disbiosi permittenti	Pag. 143
Regolazione del dolore attraverso il microbiota intestinale: potenziali meccanismi e strategie di intervento	Pag. 151
Disbiosi e PCOS: ruolo dell'alfa-lattoalbumina	Pag. 161
Dolore genitale e sessuale dopo il parto: il ruolo del timolo nell'igiene intima	Pag. 174