

C'è vita nell'intestino: la risposta microbica allo stress

DANIELA CAPOBIANCO E PAOLA MASTROMARINO

Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Università "Sapienza" di Roma

Some probiotic bacteria are capable of producing and delivering neuroactive substances such as gamma-aminobutyric acid and serotonin, which act on the gut-brain axis. Emerging evidence suggest the benefit of probiotic in alleviating symptoms of depression and in chronic fatigue syndrome. Such benefits may be related to the anti-inflammatory actions and the ability to reduce hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity.

INTRODUZIONE

L'intestino umano è abitato da miliardi di batteri, organizzati in centinaia di specie, che compongono un'intricata rete di microrganismi, e partecipano alla formazione di un complesso ecosistema del quale le cellule umane rappresentano un misero 10% della popolazione. Il microbioma intestinale è dominato da due filotipi batterici, *Bacteroides* e *Firmicutes*, mentre i phyla *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Verrucomicrobia* sono presenti in quantità minori (1). I ruoli esplicitati da questi microrganismi sono innumerevoli; essi infatti giocano un ruolo attivo e vitale nello sviluppo e nei processi fisiologici di base quali la digestione, la crescita, la funzionalità delle risposte innate e adattative del sistema immunitario. Recenti studi suggeriscono che anche i processi cognitivi ed emozionali possono essere alterati da microrganismi che agiscono attraverso l'asse intestino-cervello. L'interesse per il potenziale coinvolgimento del microbiota intestinale sulla funzionalità cerebrale e l'effetto dello stress sulla composizione della flora batterica intestinale, sono stati riconosciuti fin dalla metà del XIX secolo. Anche *Charles Darwin* riconobbe l'importanza di questa interazione nel suo libro "*L'espressione delle emozioni*" (1872). È ormai chiaro che l'asse intestino-cervello costituisce un percorso omeostatico bidirezionale, che coinvolge numerosi sistemi come il sistema nervoso centrale, entrambi i rami del simpatico e del parasimpatico e il sistema nervoso enterico. *Dinan et al* (2) hanno evidenziato che la complessa rete di comunicazione tra microbiota e cervello, oltre alle vie neurali, coinvolge vie ormonali e immunitarie. Alterazioni della comunicazione intestino-cervello sono associate a disordini gastrointestinali funzionali e infiammatori, obesità e disordini alimentari. Una conferma dell'importanza di questo asse è l'elevata comorbidità tra i sintomi psichiatrici legati allo stress, come ansia e depressione, ed i disturbi gastrointestinali tra cui la sindrome dell'intestino irritabile (IBS) e l'infiammazione intestinale (3).

Nonostante l'esatta comprensione della patogenesi dell'IBS rimanga insoddisfacente, alterazioni della flora intestinale e un'aumentata permeabilità epiteliale sono state recentemente implicate nella patologia.

Non sorprende quindi che la somministrazione di batteri probiotici sia in grado di determinare un effetto positivo sull'IBS. *O'Mahony et al* nel 2005 dimostrarono che la somministrazione per due mesi di *Bifidobacterium infantis* 35624 alleviava i sintomi tipici dell'IBS e normalizzava il rapporto IL-10/IL-12 nei soggetti che avevano assunto il probiotico, suggerendo un ruolo immunomodulante di questo microrganismo (4). Diverse altre specie di bat-

Key Word

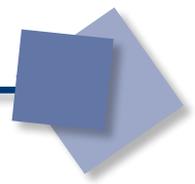
Gut-brain axis, microbiota, probiotics, stress, depression, psychobiotics

teri probiotici si sono dimostrate efficaci nel ridurre la sintomatologia dell'IBS, incluso il dolore addominale. *Guandalini et al* nel 2010 dimostrarono, per la prima volta in bambini e adolescenti affetti da IBS, che la somministrazione del prodotto probiotico VSL#3, contenente 8 diverse specie batteriche, determinava un miglioramento complessivo della percezione dei sintomi (5). Più di recente, *Distrutti et al* hanno valutato, in un modello di IBS nel ratto, l'effetto dello stesso probiotico nei confronti dello sviluppo di ipersensibilità viscerale determinata dalla separazione di ratti neonati dalla madre. La somministrazione precoce del VSL#3 ai ratti separati dalla madre, che mostravano iperalgesia e allodinia rispetto ai ratti di controllo, esercitava un potente effetto analgesico sul dolore indotto da distensione del colon retto. L'espressione genica in cellule del colon ha dimostrato che la separazione materna induce un sensibile cambiamento, che viene annullato nei ratti a cui è stato somministrato VSL#3, nell'espressione di molti geni coinvolti nella trasmissione del dolore e nell'infiammazione (6).

È ormai chiaro che il microbiota può svolgere un ruolo cruciale nel mantenimento dell'omeostasi e contribuire alla patogenesi di numerose patologie, compresi i disturbi del sistema nervoso centrale (2). Gli effetti benefici di un microbiota intestinale sano su diversi disturbi psichiatrici sono supportati dai risultati ottenuti in diversi trial clinici in cui sono stati utilizzati batteri probiotici quali coadiuvanti in patologie depressive o ansiose. Proprio per indicare il loro effetto, *Logan e Katzman* nel 2005 coniarono il termine “**Psicobiotico**” che definisce un “*organismo vivo che, se ingerito in adeguata quantità, produce effetti benefici sulla salute mentale di pazienti affetti da malattia psichiatrica*” (2). Un recente studio in doppio cieco, controllato con placebo, su volontari che dichiaravano di soffrire di stati depressivi, ha dimostrato che la somministrazione per 30 giorni di *Lactobacillus helveticus R0052* e *Bifidobacterium longum R0175* determinava una significativa riduzione dello stress percepito, associata ad una diminuzione dei livelli di cortisolo nelle urine (7). Un ulteriore supporto all'ipotesi che il microbiota possa avere effetti psicotropi è suggerito dai risultati ottenuti in uno studio su pazienti con sindrome da stanchezza cronica in cui la somministrazione di *Lactobacillus casei Shirota*, una volta al giorno per due mesi, ha determinato un miglioramento significativo rispetto al gruppo trattato con placebo (8).

■ LO STRESS INFLUENZA IL MICROBIOTA INTESTINALE

È ormai noto che lo stress induce cambiamenti nel microbiota (2). Nei topi, la separazione dalla madre per tre ore al giorno dal secondo al dodicesimo giorno di vita, determina nell'età adulta un aumento del corticosterone (ormone chiave nel meccanismo di stress) una aumentata risposta immunitaria in seguito alla stimolazione in vitro con LPS (lipopolisacca-



ride) e una differenza significativa del microbiota intestinale degli animali separati dalla madre rispetto ai controlli (9). Un simile effetto della separazione materna sul microbiota intestinale è stato osservato anche in scimmie rhesus in cui è stata dimostrata una riduzione significativa nel numero di lattobacilli fecali già tre giorni dopo la separazione (2). Anche lo stress cronico in età adulta influisce sulla composizione microbica intestinale. Topi sottoposti a stress cronico mostrano diminuzione di *Bacteroides spp.* e aumento di *Clostridium spp.* nelle feci e aumentati livelli di citochine pro-infiammatorie sieriche quali l'interleuchina 6 (IL-6) e la chemochina CCL2 (10). La depressione o gli stati d'ansia, considerati le maggiori conseguenze legate allo stress, sono associati alla presenza di biomarcatori di infiammazione quali ad esempio IL-6, TNF- α e proteina C reattiva (2). I siti in cui queste molecole pro-infiammatorie vengono prodotte non sono ancora noti; esistono però prove, fornite da studi sui roditori, che dimostrano come lo stress, attraverso il rilascio di mediatori quali il cortisolo o l'adrenalina, altera la funzionalità della barriera intestinale, rendendola più permeabile, consentendo quindi all'LPS, o ad altre molecole presenti nella mucosa intestinale, di stimolare il TLR4 e altri TLR con conseguente produzione di molecole pro-infiammatorie (11).

■ I POTENZIALI MECCANISMI ATTRAVERSO I QUALI IL MICROBIOTA INFLUENZA LA FUNZIONE DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

Dal secolo scorso è ben noto che microrganismi patogeni possono indurre sintomi depressivi e disordini psichiatrici. L'infezione cronica da *Treponema pallidum* (sifilide) induce deficit neurologici tra cui la demenza. La malattia di Lyme, malattia multisistemica causata dal batterio *Borrelia burgdorferi*, determina, tra i vari sintomi cronici, deficit neurologici come scarsa memoria e concentrazione, stati depressivi e instabilità comportamentale. È stato quindi recentemente suggerito che la produzione periferica di molecole pro-infiammatorie indotte da infezioni possa determinare un cambiamento nel metabolismo di neurotrasmettitori centrali (2). Il concetto che alcuni batteri possano apportare benefici alla salute mentale, come nell'ansia e nella depressione, sta emergendo invece solo da pochi anni e numerosi studi sono stati effettuati sull'argomento. Gli approcci utilizzati per chiarire il ruolo del microbiota intestinale sui disturbi del sistema nervoso includono l'uso di animali germ-free, infezioni sperimentali con batteri patogeni e l'esposizione di animali ad agenti probiotici o ad antibiotici. L'uso di modelli animali germ-free ha fornito importanti indicazioni sul ruolo del microbiota nel regolare lo sviluppo e la funzionalità dell'asse ipotalmo-ipofisi-surrene. Sudo e colleghi hanno dimostrato nel 2004 che topi germ-free adulti, cresciuti in ambiente sterile ed esposti ad uno stress moderato, mostrano un significativo aumento nella produzione di corti-

costerone e di ormone adrenocorticotropo, rispetto al gruppo di controllo (12). La risposta allo stress e i livelli di corticosterone e di ormone adrenocorticotropo degli animali germ-free sono parzialmente ristabiliti in seguito alla colonizzazione con materiale fecale proveniente dai topi di controllo e totalmente ripristinati mediante la somministrazione di *B. infantis*. Questi effetti si verificavano soltanto se la colonizzazione avveniva nei primi giorni di vita indicando che la colonizzazione intestinale nel periodo perinatale è critica per lo sviluppo di un'appropriata risposta allo stress nell'età adulta (12).

Altre specie probiotiche si sono dimostrate capaci di contrastare gli effetti comportamentali negativi determinati negli animali da infezioni sperimentali. L'infezione di topi con *Trichuris muris*, strettamente legato al parassita umano *Trichuris trichiura*, determina negli animali infettati un comportamento ansioso, una diminuzione nella corteccia dell'ippocampo dell'RNA bdnf (che codifica per la neurotrofina BDNF, una proteina coinvolta nella crescita e nella sopravvivenza neuronale) rispetto ai controlli. Il trattamento di questi animali con il microorganismo probiotico *Bifidobacterium longum* NCC3001 normalizza il comportamento e ristabilisce i livelli dell'RNA bdnf (13).

I meccanismi alla base dell'effetto benefico esercitato da microrganismi

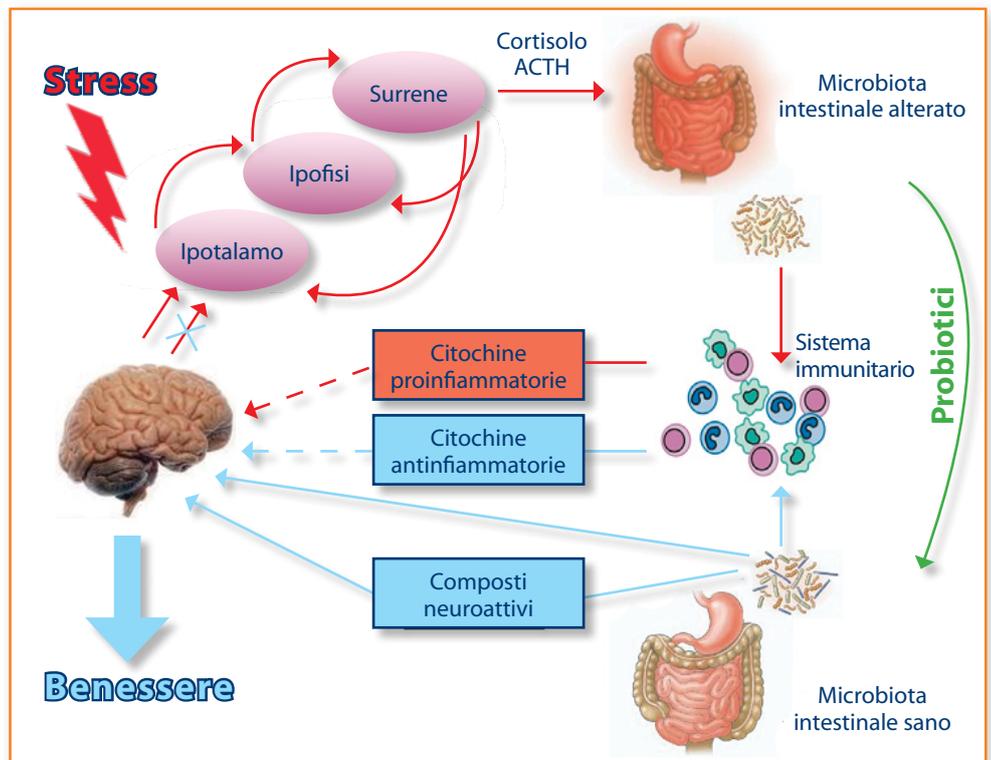
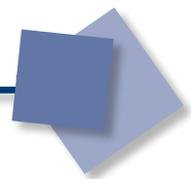


Figura 1 Microbiota intestinale e stress

Il microbiota intestinale sano ed i microrganismi probiotici regolano l'omeostasi delle citochine, aumentando le citochine antinfiammatorie e riducendo quelle proinfiammatorie, modulano l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e possono funzionare come veicoli di composti neuroattivi



probiotici e dal microbiota sano includono la produzione da parte dei batteri di diversi composti capaci di influenzare positivamente i processi emozionali, l'induzione di uno stato antinfiammatorio e la capacità di ridurre l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene [Figura 1].

Alcuni ceppi di lattobacilli e bifidobatteri secernono acido gamma-amminobutirrico (GABA). Questo composto è il principale neurotrasmettitore inibitorio nel cervello che regola diversi processi fisiologici e psicologici e la disfunzione di questo sistema è implicata nell'ansia e nella depressione (2). Inoltre un ceppo di lattobacilli è in grado di produrre acetilcolina, un altro neurotrasmettitore essenziale nel cervello umano. La serotonina, un metabolita dell'amminoacido triptofano, gioca un ruolo importante nella regolazione di diverse funzioni corporee incluso l'umore. È stato dimostrato che i livelli di serotonina nel plasma di topi convenzionali sono significativamente più elevati di quelli riscontrati in topi germ-free, dimostrando la capacità del microbiota di influenzarne i livelli (14). Inoltre l'ingestione di *Bifidobacterium infantis* aumenta la concentrazione del triptofano, precursore della serotonina, nel plasma di ratti, suggerendo che questo ceppo possa rappresentare un potenziale antidepressivo. È stato ipotizzato che i probiotici possano funzionare come veicoli di composti neuroattivi ed abbiano quindi il potenziale di agire quali agenti psicotropici. *Escherichia*, *Bacillus* e *Saccharomyces* producono norepinefrina. *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* e *Enterococcus* producono serotonina, mentre *Bacillus* e *Serratia* hanno la capacità di produrre dopamina (2). Un gran numero di neurotrasmettitori essenziali sono quindi prodotti dai microrganismi commensali presenti nel microbiota intestinale umano. Occorre infine ricordare che gli endocannabinoidi sono molecole lipidiche che agiscono come neurotrasmettitori/neuromodulatori nel cervello che contiene specifici recettori. Un ceppo di *Lactobacillus acidophilus* modula il dolore intestinale e induce l'espressione dei recettori per i cannabinoidi nel midollo spinale.

Come precedentemente riportato, depressione e ansia sono associate alla presenza di biomarcatori di infiammazione e la somministrazione di singole citochine pro infiammatorie, come l'interferon α , determina sintomi depressivi (2). È stato recentemente ipotizzato che i farmaci antidepressivi possono, in parte, esplicare il loro effetto terapeutico proprio mediante un meccanismo antiinfiammatorio basato sulla produzione di IL-10 (2). Diversi ceppi probiotici e molte specie batteriche del microbiota intestinale sono in grado di indurre la produzione di citochine antiinfiammatorie che potrebbero quindi contribuire alla regolazione delle risposte infiammatorie e di conseguenza alla modulazione dell'umore e del comportamento. Infine la normalizzazione dell'esagerata attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, indotta dalla somministrazione di *B. infantis* a topi germ-free, indica che il microbiota potrebbe anche influenzare il circuito centrale tramite la risposta allo stress neuroendocrino (2).

In conclusione, diverse evidenze sperimentali indicano che il microbiota

Key Points

- **Psicobiotico:** organismo vivo che, se ingerito in adeguata quantità, produce effetti benefici sulla salute mentale di pazienti affetti da malattia psichiatrica.
- Il microbiota intestinale svolge un ruolo importante sul mantenimento della salute psichica.
- Molti neurotrasmettitori essenziali (GABA, acetilcolina, serotonina) sono prodotti dai microrganismi commensali presenti nel microbiota intestinale umano.
- I meccanismi alla base dell'effetto benefico esercitato dal microbiota sano includono la produzione di diversi composti capaci di influenzare positivamente i processi emozionali, l'induzione di uno stato antinfiammatorio e la capacità di ridurre l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene.
- La manipolazione del contenuto microbico intestinale mediante la somministrazione di probiotici può determinare importanti benefici sull'umore e negli stati d'ansia.

intestinale svolge un ruolo importante sul mantenimento della salute psichica e che la manipolazione del contenuto microbico intestinale mediante la somministrazione di probiotici può determinare importanti benefici sull'umore e negli stati d'ansia. Ceppi microbici appropriatamente selezionati per le loro caratteristiche psicobiotiche probabilmente rappresenteranno in un prossimo futuro una nuova classe di prodotti psicotropici non convenzionali in grado di influenzare positivamente la salute mentale.

CORRESPONDING AUTHOR

PAOLA MASTROMARINO
Dipartimento di Sanità Pubblica
e Malattie Infettive
Sezione di Microbiologia
Università "Sapienza"
Piazzale Aldo Moro, 5 - 00185 Roma
Tel. + 39 06 49914628
Fax + 39 06 49914626
E-mail: paola.mastromarino@uniroma1.it

BIBLIOGRAFIA

1. Arumugam M, Raes J, Pelletier E et al. Enterotypes of the human gut microbiome *Nature* 2011;12:174-80.
2. Dinan TG, Stanton C and Cryan JF. Psychobiotics: A Novel Class of Psychotropic. *Biol Psychiatry* 2013;74:720-26.
3. Kennedy PJ, Clarke G, Quigley EM et al. Gut memories: towards a cognitive neurobiology of irritable bowel syndrome. *Neurosci Biobehav Rev* 2012;36:310-40.
4. O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P et al. Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome: Symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology* 2005; 128:541-51.
5. Guandalini S, Magazzù G, Chiaro A et al. VSL#3 improves symptoms in children with irritable bowel syndrome: a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010;51:24-30.
6. Distrutti E, Cipriani S, Mencarelli A et al. Probiotics VSL#3 Protect against Development of Visceral Pain in Murine Model of Irritable Bowel Syndrome. *PLoS One* 2013;8:e63893.
7. Messaoudi M, Lalonde R, Violle N et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation Lactobacillus helveticus R0052 and Bifidobacterium longum R0175 in rats and human subjects. *Br J Nutr* 2011;105:755-64.
8. Rao AV, Basted AC, Beaulne TM et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathogens* 2009;19:1-6.
9. O'Mahony SM, Marchesi JR, Scully et al. Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biol Psychiatry* 2009;65:263-67.
10. Bailey MT, Dowd SE, Galley JD et al. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain Behav Immun* 2011;25:397-407.
11. Ait-Belgnaoui A, Durand H, Cartier C et al. Prevention of gut leakiness by intestinal microbiota modulation leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology* 2012;37:1885-95.
12. Sudo N, Chida Y, Aiba Y et al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol* 2004;558:263-75.
13. Bercik P, Verdu EF, Foster JA et al. Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice. *Gastroenterology* 2010;139:2102-12.
14. Collins SM and Bercik P. The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. *Gastroenterology* 2009;136:2003-14.