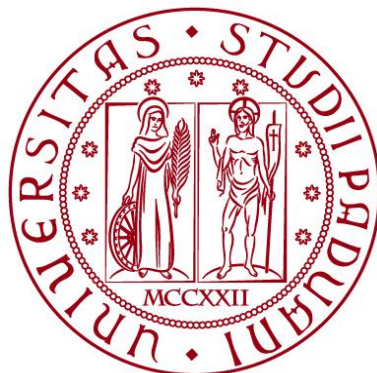


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biologia



ELABORATO DI LAUREA

**L'INFLUENZA DEL LATTE MATERNO E
DELLA FORMULA NELLA DEFINIZIONE
DEL MICROBIOTA**

**Tutor: Dott.ssa Federica Tonolo
Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione**

Laureanda: Chiara Darin

ANNO ACCADEMICO 2025/2026

ABSTRACT

Nei primi mesi di vita, il latte rappresenta la principale fonte di nutrimento di un individuo, ma ricopre anche un ruolo di fondamentale importanza nel suo benessere. Il seguente lavoro si propone di presentare la tematica, considerando gli aspetti biologici più rilevanti, a partire dall'analisi delle componenti nutrizionali e immunologiche del latte materno e artificiale. In seguito, verrà evidenziato il punto di connessione tra latte e salute del neonato: il microbiota. Infatti, la composizione batterica intestinale, oggi studiata grazie alle tecniche di sequenziamento genomico, incide direttamente sul sistema immunitario dell'ospite. Il latte materno è associato allo sviluppo di un microbiota in cui prevalgono specie benefiche come *Bifidobacteria* e *Lactobacillus*, capaci di fermentare gli oligosaccaridi del latte umano (HMO), generando metaboliti che proteggono dall'attacco di patogeni.

Dall'altra parte, la composizione del microbiota sviluppatosi tramite latte in formula, differisce da quella del latte materno e può essere associata in alcuni casi a disbiosi. Come presentato in ultima istanza, tali differenze batteriche possono impattare sulla salute nell'età adulta, in quanto associate all'insorgenza di patologie intestinali, metaboliche e respiratorie. Tuttavia, sebbene gli studi siano concordi nell'evidenziare i benefici del latte materno, questo dato non va interpretato come stigma nei confronti della formula, che rappresenta una scelta sicura e in alcuni casi la sola disponibile per la crescita neonatale.

INDICE

INTRODUZIONE.....	1
CAPITOLO 1: IL LATTE.....	2
1.1 COMPOSIZIONE BIOCHIMICA DEL LATTE MATERNO.....	2
1.1.1 LA COMPONENTE NUTRIZIONALE.....	2
1.1.2 LA COMPONENTE IMMUNOLOGICA.....	3
1.2 COMPOSIZIONE BIOCHIMICA DEL LATTE ARTIFICIALE...7	7
1.2.1 LA COMPONENTE NUTRIZIONALE.....	7
1.2.2 LA COMPONENTE IMMUNOLOGICA.....	8
CAPITOLO 2: IL MICROBIOTA.....	9
2.1 COS'È IL MICROBIOTA.....	9
2.2 COMPOSIZIONE BATTERICA DEL MICROBIOTA.....	10
2.3 SVILUPPO DEL MICROBIOTA.....	12
CAPITOLO 3: MICROBIOTA DA LATTE MATERNO E DA LATTE IN FORMULA.....	14
3.1 MICROBIOTA DA LATTE MATERNO.....	14
3.1.1 IL RUOLO DEGLI HMO.....	14
3.1.2 PRODUZIONE DI METABOLITI.....	15
3.1.3 IL RUOLO DELLE SIgA.....	15
3.2 MICROBIOTA DA LATTE IN FORMULA.....	16
3.3 LE IMPLICAZIONI SULLA SALUTE.....	17
3.3.1 ALLERGIE ALIMENTARI E RESPIRATORIE.....	18
3.3.2 NEC.....	19
3.3.3 OBESITÀ.....	20
CONCLUSIONI.....	21
BIBLIOGRAFIA.....	22

INTRODUZIONE

La ricerca in ambito nutrizionale e immunologico degli ultimi anni ha visto l'avanzare di numerosi studi sul microbiota. In particolare, il microbiota intestinale, cioè quell'insieme di microrganismi che colonizzano il tratto digerente, svolge un ruolo di fondamentale importanza nella salute umana. È infatti coinvolto nel supporto del metabolismo tramite la digestione, ma anche nel sistema immunitario, nella protezione da patogeni e nella definizione dell'asse intestino-cervello (6).

Lo sviluppo del microbiota avviene nelle prime fasi di vita dell'individuo e la sua stabilizzazione si realizza a circa tre anni d'età. Fino a questo periodo, diversi fattori ne definiscono la composizione: oltre alla modalità di nascita e all'ambiente di crescita, spiccano fra tutti le pratiche di alimentazione. L'allattamento influenza la colonizzazione batterica dell'intestino del neonato e il microbiota che ne risulta mostra profili diversi a seconda che il bambino sia stato alimentato con latte materno o artificiale.

A partire dalla curiosità di approfondire la tematica, il seguente lavoro si propone di analizzare, tramite una revisione della recente letteratura, il ruolo del latte nella definizione del microbiota e di comprendere come variazioni della sua composizione implicino predisposizioni a patologie nell'età adulta.

CAPITOLO 1: IL LATTE

1.1 Composizione biochimica del latte materno

Il latte materno umano (*Human Breast Milk*, HBM) svolge un ruolo di fondamentale importanza nelle prime fasi di vita del neonato, incidendo non solo nella sua nutrizione e crescita, ma anche nella colonizzazione intestinale, nello sviluppo dell'immunità e nella prevenzione di numerose patologie. Chiarire la composizione del HBM significa quindi comprendere in termini biologici la sua implicazione nella salute.

1.1.1 La componente nutrizionale

L'HBM è una sostanza complessa la cui composizione varia in base a diversi fattori, tra cui lo stadio di maturazione del latte, la dieta materna e il tipo di conservazione utilizzato. In termini generali, è composto per l'88% di acqua mentre la percentuale restante è data da macronutrienti e in minima parte da micronutrienti (vitamine e minerali). Carboidrati (7%), proteine (1%) e lipidi (3,5-4,5%) sono i macronutrienti direttamente coinvolti nell'apporto nutrizionale al neonato, in quanto forniscono circa 65-70 kcal ogni 100 ml di latte (1).

I **carboidrati** rappresentano la riserva energetica più consistente in quanto ricoprono il 40% del fabbisogno calorico totale. Tra di essi, quello più abbondante è il lattosio: disaccaride che per essere assimilato, viene scisso in glucosio e galattosio dall'enzima lattasi. L'assorbimento corretto del lattosio porta all'aumento del peso del neonato, oltre che a un adeguato sviluppo del sistema nervoso centrale (1). Si tratta del principale responsabile dell'osmolarità dell'HBM e permette l'assimilazione efficace di oligosaccaridi e minerali (1).

Oltre al lattosio e a piccole quantità di galattosio e glucosio liberi, gli altri carboidrati del HBM sono gli oligosaccaridi del latte umano (*Human Milk Oligosaccharides*, HMO). Questi, tuttavia, non svolgono funzione energetica bensì, come verrà approfondito in seguito, immunitaria.

Per quanto riguarda le **proteine**, le più presenti sono le sieroproteine e le caseine. Le caseine si organizzano in micelle contenenti calcio e fosforo e il loro assorbimento è lento e prolungato. Le proteine del siero sono invece caratterizzate da una struttura globulare che le rende digeribili più velocemente. Nel HBM, la concentrazione di proteine risulta più elevata subito dopo la nascita (14–16 g/L),

per poi diminuire di metà dopo 6 mesi di allattamento. Tale diminuzione nel passaggio da colostro a latte maturo si spiega nel seguente modo: se poco dopo la nascita il neonato necessita di grandi quantità di amminoacidi per lo sviluppo immediato, con l'avanzare delle settimane predilige lipidi e carboidrati, fondamentali per l'attività fisica e lo sviluppo cerebrale.

Infine, i **lipidi**. Per la maggior parte sotto forma di trigliceridi, forniscono circa il 50% dell'apporto energetico al lattante. Come le concentrazioni degli altri macronutrienti, anche quella dei lipidi è soggetta a fluttuazioni: se il colostro presenta 15-20 g/L di lipidi, il latte maturo ne contiene fino a 40 g/L. Gli acidi grassi si trovano nel HBM principalmente sotto forma di catene medie (C10–C18). Sono presenti però anche quelli a catena lunga, tra cui l'acido docosaesaenoico (C22:6n-3) e l'acido eicosapentaenoico (C20:5n-3) che si accumulano nel cervello del bambino nei primi due anni di vita, contribuendo allo sviluppo della vista e delle funzioni neurocomportamentali. Gli acidi grassi a catena corta (*Short Chain Fatty Acids*, SCFA) favoriscono infine la maturazione del tratto gastrointestinale e la regolazione del sistema immunitario.

1.1.2 La componente immunologica

L'HBM contiene anche composti bioattivi, vale a dire sostanze non nutrizionali, che non forniscono energia, ma che regolano importanti processi biologici. Numerose molecole presenti soprattutto nel colostro, sono infatti coinvolte nell'immunità, migliorando la capacità dell'organismo a resistere ad agenti patogeni. Tra questi composti a funzione immunitaria ci sono varie proteine, carboidrati e molecole di RNA.

Le **proteine** immunitarie sono alpha-lattoalbumina, lattoferrina, lisozima, immunoglobuline secretorie A (*secretory Immunoglobulin A*, SIgA) e citochine. Tutte appartenenti al gruppo delle proteine del siero, svolgono funzioni leggermente diverse.

Alpha- lattalbumina: è una sieroproteina che partecipa alla sintesi del lattosio nella ghiandola mammaria. A livello immunitario, svolge proprietà antimicrobiche indirette. Ciò significa che la lattalbumina stessa non blocca virus e batteri, ma

contiene amminoacidi essenziali per produrre componenti del sistema immunitario dell'individuo. Tra questi:

- Cisteina, glutammato, glicina: assieme sintetizzano il glutathione, che protegge le cellule dai danni ossidativi e supporta le difese immunitarie;
- Triptofano: è il precursore della serotonina, non funge solo da neurotrasmettitore della “felicità” nel sistema nervoso centrale, ma anche da molecola segnale per modulare la risposta immunitaria e l'infiammazione;
- Lisina: favorisce la produzione di anticorpi e ha azione antivirale;
- Metionina: come la lisina, è coinvolta nella sintesi di importanti cellule del sistema immunitario.

La lattoalbumina, inoltre, legandosi all'acido oleico (fig.1), forma il complesso HAMLET (*Human Alpha-lactalbumin Made Lethal to Tumor cells*). Ancora in fase di studio, tale complesso sembra portare all'apoptosi di tumori alla vescica, papilloma cutaneo e glioblastoma (1). In particolare, dopo aver compromesso le funzioni vitali della cellula tumorale, ne induce la morte programmata.

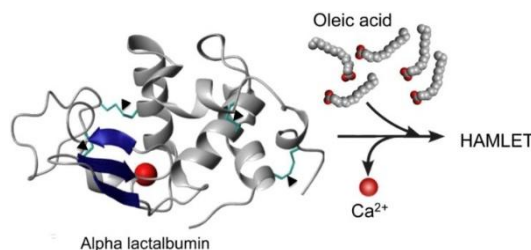
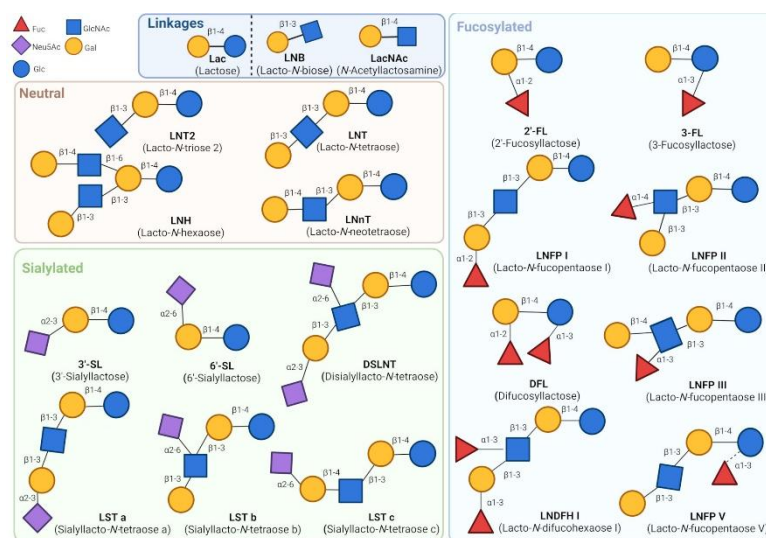


Figura 1: La struttura del complesso antitumorale HAMLET (*HAMLET – A protein-lipid complex with broad tumoricidal activity*, Ho et al., 2017)

Lattoferrina: è una glicoproteina con alta affinità per il ferro (Fe^{3+}). Legandosi con tale elemento, essa, una volta raggiunto l'intestino del neonato, agisce sottraendo il ferro dall'ambiente circostante. Il ferro è di vitale importanza nella sintesi degli acidi nucleici, nella respirazione cellulare e nel metabolismo enzimatico di numerosi batteri patogeni. Di conseguenza, una sua riduzione nel lume intestinale limita fortemente la crescita e la colonizzazione da parte dei patogeni (attività batteriostatica). Favorisce inoltre la formazione di un microbiota equilibrato, in quanto seleziona batteri benefici come i bifidobatteri che proliferano anche a basse concentrazioni di ferro. In sinergia con il **lisozima**, enzima con

Le immunoglobuline A secretorie (SIgA): rappresentano quasi la totalità degli anticorpi del HBM. Dal latte materno le SIgA vengono assorbite dall'intestino per poi entrare nel circolo sanguigno dove forniscono immunità passiva immediata. In particolare, a livello intestinale prevengono l'adesione di virus e batteri alla mucosa e ne regolano l'eliminazione, senza però attivare un processo infiammatorio.

Per quanto riguarda i **carboidrati**, gli **HMO** sono quelli più presenti nel HBM dopo il lattosio. Si tratta di oligosaccaridi la cui struttura di base è costituita da un nucleo di lattosio, che viene allungato tramite unità di N-acetilglucosamina (GlcNAc), D-glucosio (Glc), D-galattosio (Gal), L-fucosio e acido N-acetilneuraminico (Neu5Ac). Tramite legami glicosidici tra i componenti si svilupperanno HMO con ampie diversità strutturali, come di seguito riportato nella figura 2.



5

Funzionano da prebiotici e substrati metabolici, cioè da nutrimento diretto per i batteri benefici, che vengono così selezionati nella colonizzazione del microbiota. In quanto nutrimento, gli HMO vengono assorbiti dai bifidobatteri, i primi colonizzatori del tratto gastrointestinale. Un'abbondante presenza di HMO è indice di salute a lungo termine, perché producono SCFA che fungono da fonte energetica per le cellule della mucosa intestinale e perché bloccano l'attecchimento di patogeni come *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *Streptococcus B.* e *Campylobacter* (1).

A contribuire alla salute immunitaria partecipano anche RNA non codificanti. Quelli più studiati e più presenti nel latte materno sono i miRNA, ma evidenze scientifiche hanno provato l'esistenza anche di rRNA, cRNA, tRNA e lncRNA (3).

I **miRNA** sono corte molecole di RNA (dai 20 ai 24 nucleotidi) che regolano l'espressione genica dopo la trascrizione dell'mRNA, legandosi ad esso e inibendone la traduzione. Intervengono nel differenziamento, metabolismo e crescita di tessuti e cellule. L'HBM è particolarmente ricco in RNA (ne contiene circa 1400), che vengono trasferiti nelle cellule epiteliali intestinali del lattante e poi ai vari organi tramite circolazione ematica. Nel neonato, molti di questi RNA plasmano il sistema immunitario naïve, ne regolano la risposta immunitaria e lo difendono dai virus.

I miRNA del HBM sono contenuti in vescicole dette esosomi, che risultano particolarmente resistenti al pH acido e agli enzimi digestivi. Quelli coinvolti nell'immunità sono:

- miR-155: coinvolto nel differenziamento dei linfociti B e T, nello sviluppo delle cellule T-reg e nell'attivazione di risposte infiammatorie;
- miR-223: regola la funzione dei granulociti neutrofili;
- miR-181: differenziamento dei linfociti B;
- miR-148a-3p: svolge ruolo antinfiammatorio.

Tuttavia, i miRNA mantengono anche l'integrità dei tessuti come quello adiposo e dei polmoni e possono essere regolatori del metabolismo dei lipidi del latte (1).

1.2 Composizione biochimica del latte artificiale

Il latte artificiale rappresenta la sostanza nutritiva più usata in alternativa all'allattamento al seno, in tutti quei casi in cui quest'ultimo non sia possibile. Si tratta di una formulazione ampiamente studiata e modificata in modo che le molecole che la compongono siano presenti nella misura e proporzione più simili a quella del HBM.

1.2.1 La componente nutrizionale

Il latte artificiale deve contenere macronutrienti, micronutrienti e composti bioattivi che, seppur non di origine umana, ricalchino quelli naturalmente presenti nel latte materno. Il latte in formula è composto da proteine, lipidi, vitamine, minerali, probiotici, prebiotici che forniscono circa 500 Kcal ogni 100 g di polvere. Di seguito verranno prese in rassegna le componenti principali e le fonti da cui vengono estratte.

La componente **proteica** può avere origini diverse, a seconda delle esigenze nutrizionali del bambino. Vengono solitamente usate proteine estratte dal latte vaccino, dal latte di capra, dalla soia e idrolizzate.

- Proteine derivate dal latte vaccino: includono proteine del siero e caseine, tipiche anche del HBM. Tuttavia, il quantitativo di caseine nel latte vaccino (25 g/L) è superiore rispetto a quello nel latte umano (circa 4 g/L), che è invece più ricco in sieroproteine rendendolo più facilmente digeribile, seppure meno proteico.

La formula con questo tipo di proteine è la più usata in sostituzione al HBM, eccetto in caso di allergie, intolleranze al latte e galattosemia (una malattia metabolica che impedisce l'assorbimento del galattosio).

- Proteine derivate dal latte di soia: usate in caso di neonati affetti da galattosemia, carenza dell'enzima lattasi, allergia al latte vaccino, enterocolite o vegani (4). La formula contenente proteine di soia, se non addizionata con calcio, ha controindicazioni se somministrata a neonati prematuri, predisponendoli a osteopenia.
- Proteine da latte di capra: in seguito alla recente approvazione da parte dell'Accademia Americana di Pediatria (AAP), questa formula sta

diventando sempre più comune sul mercato, poiché completa dal punto di vista nutrizionale e ben tollerata dall'intestino dei neonati.

- **Proteine idrolizzate:** si tratta di proteine estratte dal latte vaccino che vengono scomposte in vitro in modo da risultare adatte anche ai bambini con allergie a proteine da latte animale.

I **lipidi** presenti nelle formule vengono raramente estratti da grassi animali e principalmente da oli vegetali come olio di palma, soia, cocco e girasole che garantiscono l'apporto di acidi grassi essenziali. Spesso si ricorre all'aggiunta di acido arachidonico e/o acido docosaesaenoico: acidi grassi polinsaturi a catena lunga (LC-PUFA) che, oltre a simulare la composizione del latte materno, mirano allo sviluppo cognitivo del neonato.

Per quanto riguarda i **carboidrati**, il lattosio rimane lo zucchero principale tollerato da quasi tutti i lattanti. Tuttavia, vengono talvolta aggiunti amidi o loro derivati per contribuire ulteriormente all'apporto calorico o contrastare il reflusso gastroesofageo. Qualora il bambino soffra di galattosemia o deficienza di lattasi congenita (di solito causata da esposizione a oppioidi durante la gravidanza), le alternative al lattosio comprendono saccarosio, sciroppo di mais, amido di tapioca e maltodestrine (4).

Le formule apportano anche numerosi minerali e vitamine. Minerali principali come sodio, potassio, calcio, magnesio, fosforo e zinco vengono aggiunti al latte artificiale, così come vitamine A, D, E, K, B e B9.

1.2.2 La componente immunologica

La composizione del latte in formula riflette un bilanciato apporto di nutrienti per la corretta crescita del neonato. Tuttavia, il latte artificiale non ricalca a pieno la componente immunologica dell'HBM, a causa della difficile sintesi di molecole che contribuiscono alla definizione del sistema immunitario.

Prendendo in analisi i principali elementi immunologici, il latte in formula spesso presenta l'aggiunta di HMO sintetici o prebiotici in modo da garantire la funzione antiadesiva, antimicrobica, immunomodulatrice, nonché lo sviluppo neurale (5).

Per quanto riguarda le proteine, lattoferrina e lisozima talvolta vengono aggiunte in forma ricombinante o di derivazione vaccina per simulare l'attività batteriostatica e antibatterica svolte nel HBM. Tuttavia, formule con molecole che riproducano gli effetti delle SIgA e delle citochine, non sono ancora state brevettate. Di conseguenza, il latte artificiale manca dell'immunità passiva diretta e della regolazione sottile dello sviluppo immunitario.

Per quanto riguarda i nucleotidi immunologici, i miRNA sono propri esclusivamente dell'HBM, anche se alcune formule presentano al loro interno nucleotidi che danno supporto al neonato nello sviluppo del sistema immunitario.

Questi dati indicano dunque che il latte artificiale tende a integrare molecole che contribuiscono all'immunità indiretta, senza però replicare la complessità delle molecole naturalmente presenti nel latte materno.

CAPITOLO 2: IL MICROBIOTA

2.1 Cos'è il microbiota

Con il termine “microbiota” si indica quel numeroso insieme di microrganismi che, senza comportare danneggiamento, colonizzano l'organismo umano, costituendo un sistema di alta complessità biologica. Generalmente si parla di microbiota facendo riferimento a quello intestinale, in quanto è il più abbondante nell'uomo. I microrganismi però, oltre a colonizzare il tratto digerente, invadono anche l'epidermide, la mucosa orale e le vie respiratorie. In questo lavoro si farà uso del termine “microbiota” per indicare la componente batterica intestinale.

La formazione e la moltiplicazione del microbiota, che comprende batteri, virus, funghi e protozoi, ha inizio alla nascita dell'individuo, nell'arco della vita però esso è soggetto a modifiche dovute a fattori genetici, nutrizionali e ambientali (6). Quando si raggiunge uno stato di equilibrio microbico in cui i batteri benefici convivono con quelli potenzialmente patogeni, si parla di “eubiosi”. In tale condizione le funzioni fisiologiche del microbiota intestinale sono ottimali e comprendono:

- Corretta digestione degli alimenti;
- Sintesi di vitamine essenziali;

- Regolazione della peristalsi;
- Definizione del sistema immunitario ed eliminazione di microrganismi dannosi.

Al contrario, le alterazioni all'equilibrio del microbiota prendono il nome di “disbiosi” e si manifestano quando i batteri patogeni prevalgono sulla componente benefica, riducendo la varietà dei microrganismi presenti. In questo caso si possono verificare stati infiammatori che portano all'insorgenza di patologie che spaziano da problemi gastrointestinali e metabolici a immunologici e neurologici (6).

Il microbiota non si limita quindi alla digestione e al metabolismo, ma riveste funzioni che coinvolgono diverse sedi corporee: protegge dai patogeni tramite colonizzazione delle mucose, supporta il sistema immunitario, controlla la proliferazione delle cellule epiteliali, influenza la secrezione di insulina e la comunicazione tra intestino e cervello (6).

2.2 Composizione batterica

Il microbiota intestinale comprende circa 1500 specie diverse, appartenenti a 50 phyla differenti, di cui il 90% è rappresentato dagli anaerobi *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* e *Proteobacteria* (6).

In linea generale, i primi batteri che colonizzano l'intestino neonatale sono aerobi, come i *Proteobacteria* e determinano una riduzione delle concentrazioni di ossigeno nell'ambiente intestinale. In questo modo permettono la stabilizzazione di batteri anaerobi come *Firmicutes*, *Actinobacteria* e *Bacteroidetes*. I *Proteobacteria* sono inizialmente abbondanti nel microbiota in quanto comprendono specie colonizzatrici; successivamente devono rimanere in quantità limitate in quanto una loro proliferazione eccessiva comporta stati infiammatori. I *Firmicutes* e gli *Actinobacteria* sono presenti soprattutto nel microbiota dei neonati allattati al seno. Comprendono specie in grado di metabolizzare i carboidrati, tra cui i *Bifidobacteria* (appartenenti agli *Actinobacteria*) che degradano gli HMO e producono acidi grassi a catena corta che proteggono la barriera intestinale. I *Bacteroidetes* sono fondamentali nel neonato per contribuire allo sviluppo della barriera intestinale.

L'interesse verso la composizione batterica del microbiota ha aperto la strada a numerosi studi che hanno tentato di definire un cosiddetto “*core bacteriome*”, vale a dire l'insieme di microrganismi che accomunano il microbiota della maggior parte degli individui. Tra i nove generi che costituiscono il *core bacteriome* del microbiota da latte umano sono stati identificati *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Corynebacterium*, *Ralstonia*, *Sphingomonas*, *Bradyrhizobium*, e *Propionibacterium* (11).

Tuttavia, come indicato dalla seguente tabella (fig. 3), che riporta analisi del microbiota da HBM condotte dal 2011 al 2020 da diversi ricercatori, non è stato possibile giungere a un risultato univoco.

<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Balutia</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Brevundimonas</i> <i>Burkholderia</i>	<i>Bifidobacterium</i> <i>Brevundimonas</i>	<i>Acidovorax</i> <i>Agrobacterium</i>	<i>Acinetobacter</i>
			<i>Burkholderiales(u)</i>	<i>Bifidobacterium</i> <i>Bacteroides</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Chryseobacterium</i> <i>Elizabethkingia</i> <i>Enterobacter</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Lactobacillus</i>	<i>Comamonadaceae(u)</i>	<i>Corynebacterium</i> <i>Cutibacterium</i> <i>Enterococcus</i>
	<i>Flavobacterium</i>		<i>Massilia</i> <i>Nocardioides</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Propionibacterium</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Ralstonia</i>	<i>Propionibacterium</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Ralstonia</i> <i>Rothia</i>		<i>Ralstonia</i>	<i>Pseudomonas</i>
		<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Rheinheimera</i> <i>Rhodospirillaceae</i>	<i>Rothia</i>
<i>Serratia</i> <i>Sphingomonas</i>			Universal genera (Fitzstevens et al. [45])	
<i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>Variovera</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>Vogesella</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Veillonella</i>
Hunt et al. [42]	Jost et al. [43]	Murphy et al. [48]	Moossavi et al. [50]	Zimmermann et al. [51]

Fig. 3: I *core bacteriome* rilevati da diversi studi sul microbiota (*Human Breast Milk Composition and Function in Human Health: From Nutritional Components to Microbiome and MicroRNAs*, Dae Yong Yi e Su Yeong Kim, 2021)

A parte *Staphylococcus* e *Streptococcus*, gli altri generi variano infatti da uno studio all'altro. Tali discrepanze si spiegano con due ragioni. Prima fra tutte il fatto che l'ecosistema microbico vari in base a fattori individuali, genetici e ambientali. Inoltre, la varietà nei risultati si spiega con l'utilizzo di tecniche diverse, che prevedono l'analisi del gene 16S rRNA o la metagenomica *shotgun*. Seppur entrambe utilizzate per lo studio del microbiota, la prima consiste nell'estrazione del DNA da un campione fecale, l'amplificazione e il sequenziamento del gene 16S

rRNA permettendo l'identificazione dei batteri nel campione di riferimento. La tecnica *shotgun* non si limita al sequenziamento di un solo gene, ma di tutto il materiale genetico del campione. Quest'ultima, oltre a garantire risultati più precisi nell'identificazione, rivela anche le funzioni svolte dai batteri intestinali presi in analisi: metabolismo, sintesi di vitamine essenziali e produzione di metaboliti.

2.3 Lo sviluppo del microbiota

La colonizzazione batterica dell'intestino del bambino è un processo dinamico che può essere suddiviso in tre fasi principali (9):

- Fase di sviluppo: compresa tra gli 0 e i 14 mesi di vita;
- Fase di transizione: dai 15 ai 30 mesi;
- Fase di stabilizzazione: dai 31 ai 46 mesi, in cui l'assetto microbico si stabilizza, rimanendo pressoché uguale per tutta l'età adulta.

Escludendo i fattori prenatali come abitudini alimentari materne, obesità e fumo, ciò che determina direttamente la prima invasione batterica è la **modalità del parto**. Attraverso il parto naturale, il neonato entra infatti in contatto con il microbiota vaginale materno, dando avvio a un'iniziale colonizzazione microbica dell'intestino che può persistere anche un mese dopo la nascita. È stato provato che il parto naturale determini nel microbiota del bambino una maggior presenza di batteri del genere *Bacteroides*.

I bambini nati tramite parto cesareo non vengono in contatto con la mucosa vaginale, di conseguenza i loro batteri colonizzatori sono quelli presenti sulla cute materna e nell'ambiente ospedaliero. La modulazione del microbiota è così sottile che un cesareo programmato avrà un impatto diverso nell'intestino del neonato rispetto a un cesareo d'emergenza: in quest'ultimo i livelli di progesterone risultano più bassi, diminuendo così anche la crescita di *Bifidobacteria*. Dopo la nascita, il microbiota è in pieno sviluppo e cambiamento. Altre cause che concorrono alla sua modifica sono l'ambiente di crescita, l'uso di antibiotici, il sistema immunitario e l'alimentazione.

L'ambiente in cui il bambino cresce è un altro fattore determinante, in quanto lo espone a una maggior varietà batterica che si riflette nella composizione del

microbiota. Ciò si verifica soprattutto grazie al contatto con aria, superfici domestiche, fratelli e/o animali domestici.

La somministrazione di antibiotici in un periodo critico come quello della formazione del microbiota può alterarne fortemente la composizione. In particolare, tanto precocemente si è verificata l'assunzione di antibiotici nel bambino, quanto maggiore sarà l'impatto sul microbiota. Gli antibiotici ledono gran parte dell'ecosistema batterico, inducono la perdita di batteri benefici e riducono l'espressione delle immunoglobuline e di altri agenti che bloccano i patogeni (6). Il risultato è una profonda alterazione dell'immunità neonatale, in quanto l'individuo risulta più esposto all'attacco di patogeni. Oltre agli antibiotici, anche l'assunzione di alcuni farmaci tra cui gli inibitori della pompa protonica, possono avere effetti deleteri sulla salute.

Il sistema immunitario neonatale, seppur ancora in fase di sviluppo, contribuisce alla selezione di microrganismi intestinali. Cellule immunitarie e batteri del microbiota interagiscono in modo bidirezionale tra loro: da una parte i batteri producono metaboliti che regolano le cellule T-reg in modo che il sistema immunitario distingua i batteri patogeni da quelli benefici. Dall'altra, le cellule immunitarie eliminano alcuni batteri, selezionando quelli benefici che costituiranno il microbiota.

L'alimentazione durante i primi mesi dell'individuo rappresenta il fattore più importante nello sviluppo del microbiota. Come in seguito verrà abbondantemente illustrato, il latte materno e, in modo simile, la formula, contengono sostanze che nutrendo i batteri, favoriscono la formazione di un microbiota funzionale ed equilibrato.

CAPITOLO 3: MICROBIOTA DA LATTE MATERNO E DA LATTE ARTIFICIALE

L'alimentazione durante i primi mesi di vita è direttamente connessa con la formazione del microbiota. In questo capitolo verranno illustrate le differenze tra microbiota da latte materno e da latte artificiale, analizzandone in ultima istanza l'impatto sull'insorgenza di alcune patologie.

3.1 Microbiota da latte materno

L'allattamento materno rappresenta il modulatore chiave nello sviluppo del microbiota neonatale. Innanzitutto, è bene chiarire che una parte dei batteri viene trasferita dalla madre al figlio tramite “*enteromammary pathway*” (1), un meccanismo secondo il quale i batteri dell'intestino materno passano alla ghiandola mammaria e tramite l'allattamento, raggiungono l'intestino neonatale.

Considerando le molecole presenti nel latte che sono implicate nella formazione del microbiota, vanno considerati gli HMO, le SIgA e i metaboliti prodotti dai batteri.

3.1.1 Il ruolo degli HMO

Grazie all'alto contenuto di oligosaccaridi (8-12 g/L), il latte materno porta alla formazione di un microbiota bilanciato nel bambino (9). Infatti, la presenza di HMO, che dal latte raggiungono l'intestino del neonato, seleziona e stimola la colonizzazione da parte dei batteri benefici *Bifidobacteria*, che rappresentano dal 50% al 90% della popolazione batterica. Nei primi mille giorni di vita, il microbiota sano del bambino è ricco di specie di *Bifidobacteria* che metabolizzano gli HMO: *Bifidobacterium longum subsp. Infantis*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium breve*. Tra questi, *Bifidobacterium longum subsp. Infantis* ha la più alta capacità di catabolizzare gli HMO, in quanto contiene tutti e cinque i gruppi di geni responsabili dell'utilizzo degli oligosaccaridi del latte (H1, H2, H3, H4 e H5).

I bifidobatteri usano come substrati gli HMO, portando alla produzione di SCFA in seguito alla fermentazione. L'abbondanza di bifidobatteri è correlata inoltre a un'elevata produzione di cellule immunitarie (neutrofili, basofili, plasmacellule, cellule della memoria CD8, linfociti T, cellule T-reg), che dimostrano la loro implicazione nel sistema immunitario sia innato che adattativo (7). Al contrario,

l'assenza dei geni utilizzatori degli HMO nei batteri comporta un'immunità alterata.

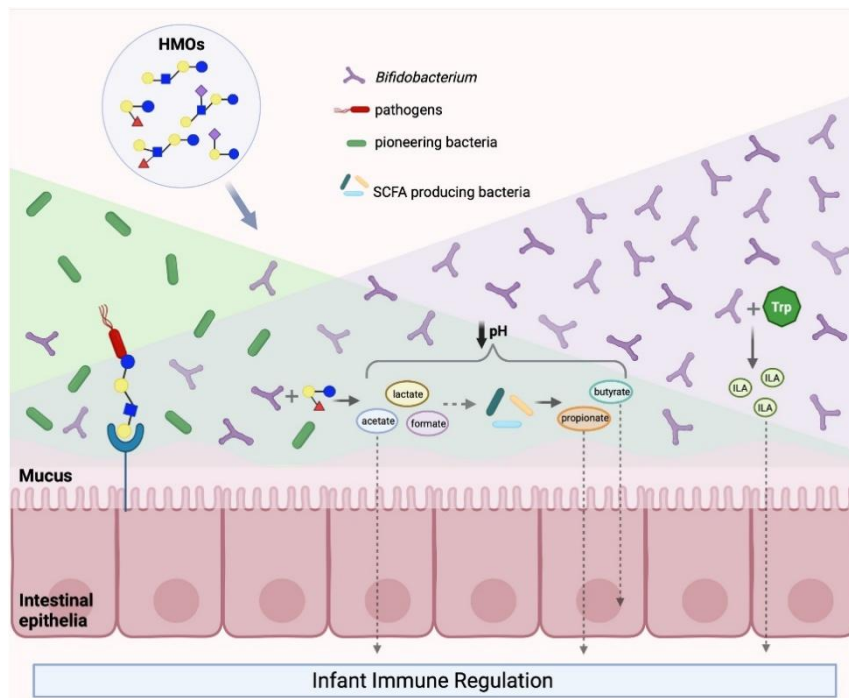


Fig. 4 L'influenza degli HMO nella formazione del microbiota e dell'immunità (*Gut microbiome and breast-feeding: Implications for early immune development*, Erin C. Davis et al., 2022)

3.1.2 Produzione di metaboliti

Gli SCFA sopracitati rientrano nella produzione di metaboliti derivanti dall'attività batterica. Attraverso la fermentazione degli HMO da parte di bifidobatteri e lattobacilli si formano lattato, acetato e butirrato (fig.4). Questi acidi grassi determinano l'abbassamento del pH del lume intestinale che inibisce l'insediamento di batteri patogeni.

Alcune specie di bifidobatteri e di lattobacilli possono metabolizzare anche il triptofano in indolo-3-lattico (ILA), l'indolo-3-aldeide e l'indolo-3-propionato: queste molecole mantengono l'omeostasi delle mucose intestinali, hanno un effetto antinfiammatorio e aumentano la produzione di molecole antiossidanti e neuroprotettive (6).

3.1.3 Il ruolo delle SIgA

Presenti soprattutto nel colostro, le SIgA, una volta raggiunto l'intestino del lattante, sono fondamentali sia nella prevenzione dell'attacco di patogeni (funzione

protettiva) sia nella modulazione di un microbiota ricco in specie benefiche, tramite la loro attività di selezione batterica.

Presentano una struttura dimerica che lega più antigeni simultaneamente, favorendone il *cross-linking* e l'agglutinazione di virus e batteri nel muco intestinale. Il raggruppamento e l'eliminazione dei patogeni, senza l'attivazione di processi infiammatori prende il nome di "esclusione immunitaria".

Questi meccanismi fanno sì che la composizione del microbiota di neonati allattati al seno sia la più equilibrata dal punto di vista immunitario e biologico: bifidobatteri infantili, HMO e SIgA favoriscono la colonizzazione di batteri benefici e il controllo del numero di patogeni. Inoltre, tramite sequenziamento *shotgun* è stato provato che la comunità batterica del microbiota da HBM presenta un'elevata quantità di geni funzionali coinvolti nella sintesi degli acidi grassi, sintesi della vitamina B e nella fosforilazione ossidativa (7).

3.2 Microbiota da latte artificiale

Il latte artificiale determina un microbiota con composizione diversa rispetto a quello di individui allattati al seno. In particolare, i primi studi sul microbiota da latte in formula mostravano una scarsa presenza di bifidobatteri, con conseguente impatto negativo sul metabolismo degli oligosaccaridi e sulla protezione da specie patogene. Oggi, per ovviare a tale mancanza, è possibile aggiungere HMO artificiali nelle formule, altrimenti assenti o scarsi nel latte vaccino. In particolare, 2'-FL (2'- fucosilattosio) e LNnT (latto-N-neotetraosio) sono stati approvati dalle autorità EFSA (*European Food Safety Authority*) e FDA (*Food and Drug Administration*) come sostituti degli HMO nelle formule e commercializzati dal 2016 (8). Gli HMO aggiunti non derivano dal latte umano, ma hanno stessa struttura, di conseguenza prendono il nome di HiMO (*Human Identical Milk Oligosaccharides*). Le formule con HiMO portano a una composizione del microbiota più simile a quella dei neonati allattati al seno, con abbondanza di bifidobatteri e lattobacilli. Inoltre, la loro introduzione ha portato benefici immunitari, dovuti alla selezione che gli HiMO svolgono sui batteri benefici: meno infezioni al tratto respiratorio, meno uso di antipiretici e antibiotici. Confrontando bambini allattati con formule prive di HiMO e bambini con formule arricchite con HiMO, si è osservata la presenza di *Bifidobacterium infantis*, e una riduzione di

Clostridium difficile (specie patogena, associata a infiammazione del colon) nei secondi.

A prescindere dall'aggiunta di HiMO, la principale differenza tra neonati allattati al seno e artificialmente è che la formula comporta un microbiota neonatale più simile a quello degli adulti in quanto più vario e ricco in specie batteriche. Ciò si evidenzia nell'abbondanza di geni implicati nella metanogenesi, nella sintesi di acidi biliari, nel metabolismo degli amminoacidi e dei nucleotidi (7).

Come evidenziato nell'analisi tramite 16S rRNA condotta nel 2020 dal gruppo di ricerca di Kris YW et al., il microbiota dei bambini di 6 settimane allattati con formula risulta più ricco in specie batteriche, a causa del minor effetto selettivo del microbiota. *Proteobacteria* (*Haemophilus*, *Enterobacter*, *Raoultella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Dickeya*), *Bacteroidetes*, *Firmicutes* e *Actinobacteria* erano le specie più presenti in tutti gli individui presi in analisi. Tuttavia, il microbiota derivante dalla formula mostrava più *Firmicutes* (*Veillonella* ed *Enterococcus*) e *Verrucomicrobia*. È interessante notare come tra gli *Actinobacteria* sia stata rilevata la presenza di *Bifidobacterium*, ad indicare che l'aggiunta di HMO nelle formule ha un concreto risvolto nel microbiota neonatale, rendendolo più simile a quello dei neonati allattati con HBM.

Quindi, se da un lato le formule moderne vengono arricchite con prebiotici (oligosaccaridi) e probiotici (*Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, derivanti dal microbiota fecale infantile) per stimolare la crescita di batteri benefici, dall'altro le componenti immunologiche dell'HBM non sono ancora replicabili.

3.3 Implicazioni sulla salute dell'individuo

La linea guida della WHO (*World Health Organization*) suggerisce l'allattamento materno fino ai sei mesi, in quanto l'impatto che il microbiota ha sulla salute del lattante è evidente: bambini allattati con HBM mostrano meno predisposizione alla NEC (enterocolite necrotizzante), alle allergie alimentari e respiratorie e all'obesità in età adulta (11). Seppur i meccanismi che promuovono l'insorgenza di queste condizioni non siano ancora del tutto compresi, di seguito ne verranno presentati i fattori più rilevanti.

3.3.1 Allergie alimentari e respiratorie

Secondo gli studi, bambini allergici presentano un numero maggiore di taxa appartenenti ai *Firmicutes* e un numero minore di taxa appartenenti ai *Bacteroidetes*. In particolare, si è osservata (fig.5) una maggiore abbondanza di *Faecalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus gnavus*, *Blautia wexlerae* e *Anaerostipes hadrus*. Invece, specie come *Bifidobacterium longum*, *Bacteroides dorei*, *Bacteroides vulgatus*, *Ruminococcus bromii* e altre specie degradatrici di fibre e produttrici di SCFA, risultano significativamente ridotte rispetto ai soggetti sani (11).

A livello immunologico, tale disbiosi comporta un'alterazione dell'omeostasi intestinale e una diminuzione delle cellule T-reg, responsabili della tolleranza immunitaria verso antigeni innocui. Di conseguenza, si attiva la risposta dei linfociti T-helper 2, comportando la produzione di IgE, cioè anticorpi prodotti dal sistema immunitario in seguito all'esposizione ad allergeni. Il risultato è una reazione allergica caratterizzata dal rilascio di citochine (IL-13, IL-5, IL-4, IL-9). Inoltre, la disbiosi comporta una barriera intestinale indebolita a causa della ridotta adesione delle giunzioni delle cellule intestinali. Il passaggio di antigeni alimentari e respiratori nel circolo sanguigno è dunque facilitato, in quanto aumenta la permeabilità intestinale, e si attiva il sistema immunitario comportando risposte allergiche.

Al contrario, un microbiota ricco di *Bifidobacteria* e HMO porta alla produzione di SCFA che rinforzano la barriera intestinale e favoriscono la produzione di T-reg che mantenendo bassa la produzione di IgE, riducono gli stati infiammatori.

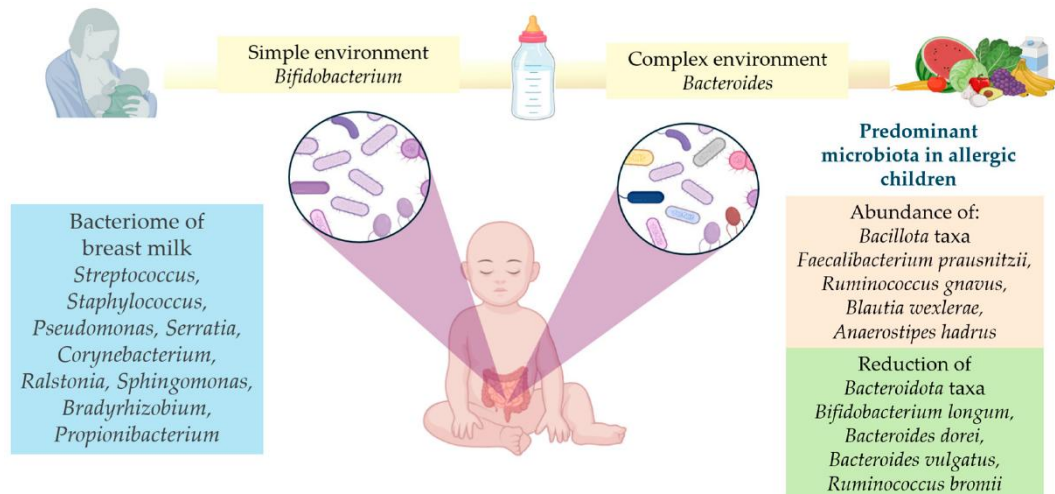


Fig. 5 composizione del microbiota di bambini sani e bambini con allergie (Lourdes Herrera-Quintana, Héctor Vázquez-Lorente et al., *Relationship between infant feeding and the microbiome: implications for allergies and food intolerances*, 2024)

3.3.2 NEC

Con il termine NEC si fa riferimento all'enterocolite necrotizzante, grave patologia che colpisce soprattutto neonati prematuri e con basso peso corporeo alla nascita. Comporta infiammazione e necrosi dell'intestino tenue e del colon che possono determinare sepsi, peritonite, ulcere e talvolta morte (12).

Il recettore coinvolto nell'insorgenza è TLR4, che riconosce i lipopolisaccaridi (LPS) dei batteri patogeni e attiva la risposta infiammatoria. Nei prematuri, TLR4 è ancora fortemente espresso, aumentando la sensibilità ai batteri intestinali. Quando gli LPS si legano al recettore, vengono prodotte citochine infiammatorie che danneggiano la mucosa intestinale. Ne conseguono l'apoptosi degli enterociti e una maggiore permeabilità della barriera intestinale ai batteri, a causa dell'alterazione delle giunzioni cellulari: così si attiva ulteriormente TLR4.

Le alterazioni del microbiota dovute all'allattamento in formula rappresentano importanti fattori di rischio. In particolare, nel microbiota di neonati che hanno sviluppato NEC, è stato evidenziato un aumento relativo di *Proteobacteria* e diminuzione di batteri protettivi come *Lactobacillus*, *Firmicutes* e *Bacteroidetes*. Inoltre, tra i batteri spesso associati alla NEC ci sono ceppi appartenenti ai generi *Klebsiella*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas* (12).

In questo frangente, è stato provato che l'HBM riduca del 4% il rischio di contrarre la NEC nei bambini nati prematuri e a basso peso corporeo. Le molecole presenti

al suo interno, tra cui gli HMO che bloccano i patogeni e le molecole immunitarie che bloccano l'attivazione di TRL4, agiscono in sinergia nel prevenire la NEC.

3.3.3 Obesità

L'obesità è una condizione multifattoriale che causa aumento di peso, deposizione di tessuto adiposo e insulino-resistenza nel soggetto. Le prime ricerche sulla correlazione tra microbiota e obesità hanno evidenziato un aumento del rapporto tra *Firmicutes* e *Bacteroidetes* nella patologia. L'abbondanza di *Firmicutes* sembrava infatti associata a un maggiore accumulo di grasso corporeo. Oggi, tuttavia, l'idea secondo cui l'obesità dipenda strettamente dal rapporto tra i due phyla batterici, sembra superata.

Il microbiota associato alla patologia risulta più efficiente nell'estrazione di energia dalla dieta e nella conversione di polisaccaridi alimentari non digeribili in monosaccaridi e in acidi grassi complessi che si accumulano nel fegato. Infatti, nonostante gli effetti positivi che gli SCFA svolgono sull'intestino, l'eccesso nel sangue, soprattutto di butirato, può essere rischioso per la salute, portando ad accumulo di grasso e danni epatici.

Associare gruppi tassonomici precisi all'insorgenza dell'obesità è difficile, tuttavia l'esistenza di correlazione con il microbiota è certa: i trapianti di microbiota fecale a soggetti obesi possono modificare la composizione microbica intestinale del ricevente, favorendone la perdita di peso. Infine, alcuni batteri del microbiota come *Christensenellaceae*, *Akkermansia muciniphila*, *Bifidobacterium* diminuiscono il rischio di obesità, in quanto associati a un minor indice di massa corporea (BMI) dell'ospite (13).

CONCLUSIONI

L'analisi delle componenti del latte materno e della formula evidenzia l'impatto di queste pratiche d'alimentazione non solo sulla nutrizione e la corretta crescita del neonato, ma anche sul sistema immunitario e sulla predisposizione ad alcune patologie. Il fattore che gioca un ruolo di fondamentale importanza nella connessione tra latte e salute è il microbiota intestinale. È opinione condivisa che l'allattamento al seno definisca il microbiota più equilibrato dal punto di vista fisiologico, soprattutto nei primi sei mesi di vita. D'altra parte, la formula può essere associata a una minore protezione dai patogeni a causa della mancanza di molecole immunologiche naturalmente presenti nel HBM.

I risultati delle analisi tenderebbero a sottolineare i benefici del latte materno in contrapposizione ai rischi associati a quello artificiale. Tuttavia, ciò non deve essere interpretato come indicatore della superiorità di un metodo di allattamento rispetto a un altro. Infatti, sebbene l'HBM costituisca la scelta più completa, in particolare dal punto di vista immunologico, non può essere sempre somministrato e la sua sostituzione con il latte artificiale garantisce comunque un corretto e sicuro sviluppo dell'individuo. Alle moderne formule, infatti, vengono aggiunti HMO che supportano la crescita dei *Bifidobacteria*, permettendo lo sviluppo di un microbiota neonatale simile a quello derivante da latte materno. Inoltre, prospettive future includono l'aggiunta al latte artificiale di altri probiotici come *Streptococcus* e *Propionibacterium* e la possibilità di usare come prebiotici altri oligosaccaridi oltre a 2'-FL (2'- fucosilattosio) e LNnT (latto-N-neotetraosio).

Sebbene questi temi abbiano rappresentato un'interessante scoperta nel mondo scientifico, ulteriori studi sono necessari. In particolare, sui meccanismi biologici alla base della colonizzazione intestinale e sulla relazione tra microbiota e patologie. Il potenziamento delle moderne tecniche di sequenziamento genomico per analizzare i geni e i loro risvolti funzionali nel metabolismo rappresenta un promettente punto di partenza per il proseguimento delle ricerche.

BIBLIOGRAFIA

1. **Dae Yong Yi, Su Yeong Kim (2021)**, *Human Breast Milk Composition and Function in Human Health: From Nutritional Components to Microbiome and MicroRNAs*. *Nutrients*, 13, 3094, <https://doi.org/10.3390/nu13093094>
2. **Lina Tingö, Emelie Ahlberg et al. (2021)**, *Non-Coding RNAs in Human Breast Milk: A Systematic Review*. *Frontiers in Immunology*, 12, 725323, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.725323>
3. **Elena Carrillo Lozano, Fernando Sebastián Valles et al. (2020)**, *Circulating microRNAs in Breast Milk and Their Potential Impact on the Infant*. *Nutrients*, 12, 3066, <https://doi.org/10.3390/nu12103066>
4. **Jennifer Goldman, Tyler Miller (2024)**, *Infant formula ingredients and Components*. *TRiP*, 10, 26075 <https://trip.utah.edu/infant-formula-ingredients-and-components/>
5. **Yu-Jyun Cheng, Chun-Yan Yeung (2020)**, *Recent advance in infant nutrition: Human milk oligosaccharides*. *Pediatrics and Neonatology*, 62, 347-353 <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2020.12.013>
6. **Eman Zakaria Gomaa (2020)**, *Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review*. *Springer Nature*, 113, 2019-2040 <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01474-7>
7. **Erin C. Davis, Vanessa P. Castagna et al. (2022)**, *Gut microbiome and breast-feeding: Implications for early immune development*. *J Allergy Clin Immunol.*, 150, 523-34 <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2022.07.014>
8. **Meltem Dinleyici, Jana Barbieur et al. (2023)**, *Functional effects of human milk oligosaccharides (HMOs)*. *Taylor & Francis*, 15, 2186115 <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2186115>

9. **Yvan Vandenplas, V. P. Carnelli et al. (2020)**, *Factors affecting early-life intestinal microbiota development*. Nutrition, 78, 110812
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110812>
10. **Kris YW Lok, Jade LL Teng et alt. (2025)**, *Influence of feeding practices on intestinal microbiota composition in healthy Chinese infants: a prospective cohort study*. Journal of Pediatric Healt Care, 39, 14-21
<https://doi.org/10.1016/j.pedhc.2024.06.015>
11. **Lourdes Herrera-Quintana, Héctor Vázquez-Lorente et al. (2024)**, *Relationship between infant feeding and the microbiome: implications for allergies and food intolerances*. Children, 11, 1030
<https://doi.org/10.3390/children11081030>
12. **Annette Gawron Roberts, Noelle Younge et al. (2024)**, *Neonatal Necrotizing Enterocolitis: an update on pathophysiology, treatment and prevention*. Pediatric Drugs, 26, 259-275 <https://doi.org/10.1007/s40272-024-00626-w>
13. **Zivana Puljiz, Marko Kumric et al. (2023)**, *Obesity, gut microbiota and metabolome: from pathophysiology to nutritional interventions*. Nutrients, 15, 2236 <https://doi.org/10.3390/nu15102236>