



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI
PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN FARMACIA

Valutazione dello stato del microbiota nei soggetti
obesi o in stato di sovrappeso

Studente:
Laura De Checchi

Relatore:
Prof. Nicola Sponsiello

Matricola:
1197070

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

A chi c'è sempre stato.
A chi ha creduto in me fin dall'inizio.
E fino alla fine.
A te, che più di chiunque altro avrei voluto fosse qui con me.

INDICE

INTRODUZIONE ED OBIETTIVO DELLO STUDIO	6
CAPITOLO 1	8
IL MICROBIOTA INTESTINALE	8
1.1.1 Attuali conoscenze sul microbiota intestinale	8
1.1.2 Influenze esogene del microbiota	11
1.1.3 Le principali funzioni	15
1.1.4 Limiti dei test diagnostici	24
CAPITOLO 2	26
LA DISBIOSI INTESTINALE	26
2.1.1 Cosa si intende per disbiosi	27
2.1.2 Le cause della disbiosi	30
2.1.3 Le possibili conseguenze della disbiosi	34
CAPITOLO 4	39
SOGGETTI MATERIALI E METODI	39
3.1.1 Criteri di inclusione ed esclusione	40
3.1.2 Analisi Effettuate	41
3.1.3 Dati	47
CAPITOLO 4	51
IL BIOHACKING	51
RISULTATI	54
DISCUSSIONE	66
CONCLUSIONI	84
BIBLIOGRAFIA	90

INTRODUZIONE ED OBIETTIVO DELLO STUDIO

Il microbiota intestinale, composto da trilioni di microrganismi che popolano l'intestino umano, rappresenta uno degli ecosistemi più complessi e dinamici del corpo umano. Oltre al ruolo chiave che svolge nella digestione e nell'assorbimento dei nutrienti, il microbiota è essenziale per la modulazione del sistema immunitario e l'interazione con il sistema nervoso centrale, attraverso l'asse intestino-cervello. Recenti scoperte scientifiche hanno evidenziato come il microbiota possa influenzare la salute globale dell'individuo, contribuendo a mantenere l'omeostasi o favorendo l'insorgenza di varie malattie.

L'obesità, il diabete di tipo 2, le malattie cardiovascolari e i disturbi metabolici rappresentano un'epidemia in rapido aumento, alimentata dallo stile di vita e dalla dieta. Numerosi studi hanno dimostrato il legame tra queste condizioni e le alterazioni nella composizione e nella funzione del microbiota intestinale, fenomeno noto come disbiosi.

L'obiettivo di questo studio è quello di caratterizzare lo stato del microbiota intestinale nei soggetti sovrappeso, valutando la correlazione tra i vari parametri di salute e l'intervento di medicina di precisione.

In particolare, il presente lavoro si propone di:

- Caratterizzare la composizione del microbiota intestinale in termini di diversità e abbondanza dei principali phyla batterici nei soggetti sovrappeso.
- Analizzare il rapporto Firmicutes/Bacteroidetes (F/B)
- Valutare i livelli di permeabilità intestinale e disbiosi, come indicatori di integrità della barriera intestinale e salute generale.
- Esaminare le correlazioni tra la composizione del microbiota e vari indicatori di salute, con particolari enfasi su parametri cardiovascolari e metabolici.

- Esplorare l'impatto di un percorso personalizzato di medicina di precisione basato su interventi dietetici e biohacking sulla modulazione del microbiota.

Lo studio è stato condotto su un campione di 15 soggetti sovrappeso presso il centro di medicina di precisione The Performance Lab, specializzato in approcci avanzati per la salute e il benessere.

I risultati di questo studio offrono nuove prospettive sulla comprensione delle complesse interazioni tra microbiota intestinale, sovrappeso e salute sistemica, evidenziando il potenziale della modulazione del microbiota come strategia terapeutica innovativa per migliorare la gestione dell'obesità e delle sue complicanze correlate. L'importanza della personalizzazione dei trattamenti emerge chiaramente, offrendo spunti per sviluppare interventi mirati e più efficaci in futuro.

CAPITOLO 1

IL MICROBIOTA INTESTINALE

1.1.1 Attuali conoscenze sul microbiota intestinale

Il microbiota intestinale è un vasto ecosistema costituito da circa 10-100 trilioni di microrganismi che popolano la superficie mucosa e il lume dell'intestino umano, sebbene stime recenti indichino una popolazione microbica di circa 38 trilioni di batteri con un, con un rapporto quasi 1:1 tra cellule batteriche e umane.

Il tratto gastrointestinale umano ospita una comunità microbica complessa e dinamica, che varia lungo il suo percorso adattandosi ai diversi microambienti.

Sebbene la maggior parte della flora batterica nel tratto gastrointestinale sia composta da batteri, vi sono anche virus, funghi (come *Candida*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* e *Penicillium*) e altri microrganismi.

Lo stomaco non è sterile ma ospita una popolazione microbica varia.

Sebbene l'ambiente acido dello stomaco agisca come barriera battericida, alcuni batteri acido-resistenti come *Streptococcus*, *Neisseria*, e *Lactobacillus* riescono a colonizzare la mucosa gastrica. Inoltre, *Helicobacter pylori* è stato riconosciuto come un residente comune dello stomaco. Oltre il 65% dei batteri nello stomaco originano dalla cavità orale, includendo generi come *Veillonella*, *Lactobacillus* e *Clostridium*.

I cinque principali phyla batterici presenti nello stomaco sono *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Proteobacteria*.

Nel tratto dell'intestino tenue, suddiviso in duodeno, digiuno e ileo, il microambiente supporta differenti popolazioni microbiche in base alla disponibilità di ossigeno e nutrienti. Nel duodeno, l'alta presenza di acidi biliari e secrezioni pancreatiche, insieme al rapido transito del cibo, limita la densità microbica a 10^3 - 10^4 CFU/ml.

Qui prevalgono *Firmicutes* e *Actinobacteria*.

Il digiuno favorisce una maggiore colonizzazione, con densità batteriche di 10^3 - 10^7 CFU/ml, dove predominano batteri aerobi Gram-positivi e anaerobi

facoltativi come Lactobacilli, Enterococchi e Streptococchi. Nell'ileo, in prossimità della valvola ileocecale, la densità batterica raggiunge fino a 10^9 CFU/ml, con una transizione verso un ambiente anaerobico popolato da organismi Gram-negativi.

L'intestino crasso è il sito principale per l'assorbimento dell'acqua e la fermentazione del cibo non digerito. Con una densità batterica che raggiunge 10^{12} CFU/ml, il microbiota del colon è dominato da *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, il cui rapporto è considerato un indicatore di salute e malattia. Generi come *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* e *Ruminococcus* predominano nel lume del colon, mentre *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Akkermansia* sono associati alla mucosa.

Si stima che oltre 10^{14} microrganismi siano principalmente concentrati nel tratto intestinale distale. Come si è osservato la composizione del microbiota intestinale non è uniforme lungo l'intero intestino, variando sia nei segmenti longitudinali che nei tre strati trasversali: le cellule epiteliali superficiali, le cellule galleggianti nel lume intestinale e quelle aderenti allo strato di muco.

Tabella 1

Limiti del numero di batteri in diversi organi, derivati dalle concentrazioni e dal volume batterico.

Posizione	Concentrazione tipica dei batteri ⁽¹⁾ (numero/contenuto mL)	Volume (ml)	Ordine di grandezza limite per il numero di batteri
Colon (intestino crasso)	10^{11}	400 ⁽²⁾	10^{14}
Placca dentale	10^{11}	<10	10^{12}
Ileo (intestino tenue inferiore)	10^8	400 ⁽⁵⁾	10^{11}
Saliva	10^9	<100	10^{11}
Pelle	< 10^{11} per m ² ⁽³⁾	1,8 metri quadrati ⁽⁴⁾	10^{11}
Stomaco	$10^3 - 10^4$	250 ⁽⁵⁾ – 900 ⁽⁶⁾	10^7
Duodeno e digiuno (parte superiore dell'intestino tenue)	$10^3 - 10^4$	400 ⁽⁵⁾	10^7

[Apri in una finestra separata](#)

⁽¹⁾ Ad eccezione della pelle, le concentrazioni sono conformi a [9]. Per la pelle, abbiamo utilizzato la densità areale batterica e la superficie totale della pelle per raggiungere un limite superiore.

⁽²⁾ Vedere la derivazione nella sezione sottostante.

⁽³⁾ La densità dei batteri sulla superficie della pelle è tratta da [11].

⁽⁴⁾ Area cutanea calcolata come dedotto dalla formula standard di DuBois per l'area della superficie corporea [12].

⁽⁵⁾ Il volume degli organi del tratto gastrointestinale è derivato dai pesi presi da [13] assumendo una densità del contenuto di 1,04 g/mL [6].

⁽⁶⁾ Il valore più elevato è dato in [14].

Ciascun individuo possiede una popolazione batterica unica a livello di genere e specie. Tuttavia, il microbiota è generalmente dominato da due phyla principali: i *Firmicutes*, che includono principalmente generi come *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Faecalibacterium*, e i *Bacteroidetes*, rappresentati da generi come *Bacteroides* e *Prevotella*. Altri phyla, tra cui *Proteobacteria*, *Actinobacteria* (prevalentemente *Bifidobacteria*), *Euryarchaeota* e *Verrucomicrobia*, sono presenti in concentrazioni minori.

Il microbiota intestinale è altamente diversificato e varia notevolmente tra gli individui. Diversi fattori influenzano questa diversità e la colonizzazione microbica dell'intestino, tra cui l'età, il sesso, la genetica dell'ospite, l'uso di farmaci terapeutici, la posizione geografica, le condizioni socioeconomiche (come vivere in ambienti urbani o rurali), la dieta e le modalità di nascita, che includono il parto pretermine o a termine e la modalità di parto. Questi fattori possono influenzare la suscettibilità alle malattie infettive tra gli individui.

1.1.2 Influenze esogene del microbiota

Il paragrafo prevede di descrivere in modo chiaro l'evoluzione della flora batterica dall'infanzia all'età adulta, con particolare attenzione ai fattori che influenzano la sua composizione, ad esempio il pH, i livelli di ossigeno, lo stato redox, la disponibilità di nutrienti, la temperatura, la dieta (carboidrati, proteine, grassi, probiotici e prebiotici), lo stato patologico, la genetica dell'ospite (età, sesso, sistema immunitario e motilità intestinale), l'uso di antibiotici e la locazione geografica.

La colonizzazione intestinale inizia già prima della nascita, durante la gravidanza, e risulta influenzata dal microbiota presente nella placenta, nel liquido amniotico e nel meconio. Questo microbiota placentare include specie come *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Fusobacteria* e *Tenericutes*, che sono simili a quelle del microbiota orale umano.

Tuttavia, al momento del parto naturale, il neonato viene esposto ai microbi della flora vaginale della madre, che iniziano a colonizzare il suo intestino come *Lactobacillus* e *Clostridiales*. In caso di parto cesareo, la situazione è diversa, il bambino viene esposto principalmente ai microbi cutanei come *Staphylococcus* e *Corynebacterium*, presenti sulla pelle della madre, il che porta a una composizione batterica intestinale iniziale diversa.

Dopo la nascita, l'allattamento, sia con latte materno che artificiale, e l'introduzione di cibi solidi rappresentano fasi critiche che influenzano ulteriormente la composizione del microbiota intestinale nei bambini. L'allattamento al seno è associato a livelli più elevati di Bifidobacteria, mentre l'allattamento con latte artificiale favorisce una maggiore presenza di *Bacteroidetes* e *Lactobacillus*. Nell'età adulta, il microbiota tende a rimanere relativamente stabile in condizioni normali, ma può subire cambiamenti in risposta a fattori come le abitudini alimentari a lungo termine, l'uso di farmaci o lo stress.

Infine, con l'avanzare dell'età, si osservano ulteriori modificazioni, con una tendenza ad una diminuzione della diversità microbica.

Le diete variano notevolmente in tutto il mondo a causa di fattori come il livello di sviluppo economico, le pratiche agricole e le tradizioni culturali causando una modifica sulla composizione del microbiota.

Tra le principali differenze osservate tra Occidente e Oriente vi sono i tipi di cibo consumati, i metodi di preparazione, le bevande, i dessert, gli utensili utilizzati e i rituali legati ai pasti.

La dieta occidentale, seguita prevalentemente in America ed Europa, si caratterizza per un consumo elevato di grassi e zuccheri, combinando alimenti di origine vegetale con prodotti animali come carne, pesce, latte e uova. Rispetto alle diete delle popolazioni rurali, la dieta occidentale è generalmente povera di fibre e ricca di grassi e carboidrati raffinati. Al contrario, la dieta orientale, diffusa in Cina e nei paesi limitrofi, si basa su pasti principali come pranzo e cena, che includono alimenti di base come riso o noodles, accompagnati da zuppe e vari piatti di verdure e carne.

Analogamente, la dieta africana è centrata su prodotti locali, con un consumo maggiore di cereali e minore di frutta rispetto alla dieta orientale. Il pasto principale, spesso il pranzo, è costituito da una combinazione di riso, legumi, pesce e, talvolta, carne.

La dieta mediterranea, adottata nei paesi che circondano il Mar Mediterraneo, enfatizza l'uso di cereali, verdure, noci e frutta, fornendo così un'importante fonte di fibre. Essa prevede un consumo ridotto di pesce, carne bianca, uova, pollame e latticini.

La variabilità nei comportamenti alimentari a livello globale è una chiara indicazione di come la geografia influenzi profondamente la composizione del microbiota intestinale. Studi dimostrano che l'enterotipo *Bacteroides* è prevalente nei paesi occidentali, dove si segue una dieta ricca di grassi e proteine, mentre l'enterotipo *Prevotella* è più comune in paesi non occidentali con diete ricche di fibre.

A livello globale, le persone nei paesi africani tendono a mostrare una maggiore diversità del microbiota intestinale, dominata da generi come *Bifidobacterium* e *Prevotella*. In confronto, le popolazioni occidentali presentano un microbiota arricchito da generi come *Faecalibacterium* e

Ruminococcus. Le popolazioni asiatiche mostrano una diversità intermedia, con caratteristiche che si sovrappongono sia ai profili africani che occidentali. Una dieta ricca di grassi è associata a una diminuzione di *Eubacterium rectale* e *Blautia coccooides* e di batteri del phylum *Bacteroidetes*. In contrasto, una dieta ricca di frutta, verdura e fibre favorisce la proliferazione di *Firmicutes*, che metabolizzano carboidrati insolubili. Le diete ad alto contenuto di carne tendono a ridurre i batteri *Firmicutes* e ad aumentare la presenza di *Bacteroidetes* e *Proteobacteria*. Inoltre, una dieta proteica può diminuire il genere *Clostridium* e aumentare *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.

Queste differenze dietetiche si riflettono nelle diversità del microecosistema intestinale tra vegetariani, che presentano una minoranza di *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, e *E. coli*, rispetto agli onnivori.

Gli studi effettuati sull'influenza della dieta sulla diversità intestinale si basano principalmente sull'eccesso o sulla mancanza dei tre componenti alimentari (carboidrati, proteine e grassi) i quali fungono da fonte di energia per i microrganismi che compongono la flora intestinale. Le principali differenze osservate sembrano essere limitate ai livelli di Phylum e genere piuttosto che di specie.

Una dieta ad alto contenuto di sale influisce sulla composizione del microbiota intestinale. In particolare, una dieta ricca di sale, contenente il 4% di sodio e un ulteriore 1% nell'acqua potabile, porta a una composizione del microbiota intestinale differente rispetto a una dieta normale con un contenuto di sale purificato (0,5% di sodio). In una dieta normale, il microbioma intestinale era prevalentemente composto da specie del phylum *Bacteroidetes*, tuttavia, con una dieta ricca di sale si è osservato un aumento del rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes*.

I prebiotici e probiotici sono ingredienti alimentari utilizzati per modulare la composizione e l'attività metabolica del microbiota intestinale a beneficio della salute umana. Questi trattamenti possono ridurre la permeabilità intestinale, l'endotossiemia metabolica, migliorare la sensibilità all'insulina e ridurre l'infiammazione di basso grado. Agiscono attraverso l'aumento delle cellule L, la produzione endogena di peptidi intestinali come GLP-1 e GLP-

2, e migliorano la sensibilità alla leptina, che controlla l'omeostasi energetica e la produzione di GLP-1. Quindi l'utilizzo di questi prodotti potrebbe rivelarsi utile nel trattamento delle malattie metaboliche.

D'altro canto, la terapia antibiotica può indurre modificazioni significative nel microbiota intestinale, ma queste alterazioni non sono necessariamente stabili o permanenti. In alcuni casi, il microbiota può recuperare nel tempo, pur senza tornare sempre al suo stato originale. Questi farmaci, che sono generalmente batteriostatici o battericidi, possono uccidere o inibire indiscriminatamente la crescita di microbi patogeni e benefici. L'alterazione del microbiota causata dagli antibiotici può portare a una diminuzione della diversità microbica, compromettendo la resistenza alla colonizzazione da parte di batteri patogeni. Ciò può facilitare l'espansione di *Clostridioides difficile*, un batterio che può causare diarrea e colite potenzialmente fatale. Le tossine rilasciate da *C. difficile* danneggiano le cellule epiteliali intestinali, provocando infiammazione e morte cellulare.

Inoltre, il trattamento antibiotico aumenta i livelli di acido sialico libero e succinato nel lume intestinale, favorendo l'espansione di batteri come *Salmonella enterica* serotipo *Typhimurium*, che può causare gastroenterite. Un ulteriore rischio legato all'uso di antibiotici è la possibilità di trasferimento di geni di resistenza tra batteri, attraverso lo scambio di materiale genetico, che può portare alla diffusione di resistenze agli antibiotici e rendere più difficile il trattamento delle infezioni.

1.1.3 Le principali funzioni

Il microbiota intestinale esercita un ruolo fondamentale nel mantenimento della salute umana, favorendo la scomposizione delle sostanze alimentari in modo da liberare i nutrienti, inaccessibili all'ospite, promuovendo la differenziazione delle cellule ospiti, proteggendo il microbiota umano e stimolando/modulando il sistema immunitario.

Esso svolge numerose funzioni essenziali, operando in quattro principali ambiti del corpo umano: metabolico, strutturale, protettivo e neurologico.

Ruolo del microbiota intestinale nel metabolismo

Il microbiota intestinale svolge un ruolo cruciale nel metabolismo energetico dell'ospite, influenzando diverse vie metaboliche attraverso l'interazione con i nutrienti e il rilascio di metaboliti bioattivi.

Studi come quello di Turnbaugh et al. (2006) hanno evidenziato che il microbiota contribuisce all'estrazione dell'energia dalla dieta attraverso la fermentazione di carboidrati complessi non digeribili, producendo acidi grassi a catena corta (SCFA) come acetato, propionato e butirato. Questi metaboliti rappresentano una fonte energetica per le cellule epiteliali intestinali e modulano anche processi metabolici sistemici, inclusa la regolazione della gluconeogenesi e della lipogenesi epatica.

Dal punto di vista metabolico, alcune specie batteriche giocano un ruolo particolarmente significativo. Ad esempio, le specie del genere *Bacteroides* sono note per la loro capacità di degradare polisaccaridi complessi, facilitando la produzione di SCFA come acetato e propionato, che influiscono sul bilancio energetico e sulla sensibilità insulinica. Al contrario, le specie appartenenti al genere *Firmicutes*, come *Faecalibacterium prausnitzii*, contribuiscono principalmente alla produzione di butirato, che ha effetti benefici sull'integrità della barriera intestinale e sull'infiammazione sistemica. La predominanza di questi gruppi batterici è stata spesso correlata con una migliore gestione del metabolismo energetico.

Flint et al. (2012) hanno sottolineato come la composizione e la diversità microbica possano influenzare la risposta metabolica dell'ospite, con impatti significativi sulla gestione del peso corporeo e sul rischio di sviluppare disordini metabolici. In particolare, un microbiota sano favorisce l'omeostasi metabolica, mentre alterazioni nella sua composizione (disbiosi), come una sovra-rappresentazione di *Firmicutes* rispetto a *Bacteroidetes*, sono state associate a obesità e altre condizioni metaboliche (Cani et al., 2012).

Inoltre, Tremaroli e Bäckhed (2012) hanno approfondito come i metaboliti batterici, tra cui gli SCFA e altri composti bioattivi prodotti da specie come *Akkermansia muciniphila*, influenzino i segnali ormonali e immunologici dell'ospite, modulando l'infiammazione e contribuendo al rischio di patologie metaboliche. *Akkermansia muciniphila*, in particolare, è stata associata a una migliore sensibilità insulinica e a un ridotto rischio di obesità, evidenziando il suo potenziale come probiotico.

In sintesi, il microbiota intestinale rappresenta un componente essenziale nella regolazione del metabolismo energetico e nell'equilibrio metabolico dell'ospite. La sua capacità di interagire con i nutrienti e di influenzare vie metaboliche e ormonali, anche grazie alla presenza di specie batteriche specifiche, lo rende un potenziale target per interventi terapeutici mirati a migliorare la salute metabolica.

Ruolo del microbiota nel metabolismo dei principali nutrienti, ovvero come i microbi intestinali metabolizzano questi nutrienti importanti e le implicazioni di questi processi.

1. Fibre alimentari

L'intestino umano è in grado di digerire una parte significativa dei nutrienti che assumiamo: circa l'85% dei carboidrati, il 66-95% delle proteine e tutti i grassi. Tuttavia, nel colon, il microbiota intestinale riesce a recuperare un ulteriore 10-30% dell'energia complessiva dai residui alimentari non digeriti, mentre il resto viene escreto con le feci. Le fibre alimentari, compresi lignina, polisaccaridi non amidacei, amido resistente (RS) e oligosaccaridi come i frutto-oligosaccaridi (FOS) e i galatto-oligosaccaridi (GOS), sono resistenti

alla digestione da parte degli enzimi umani. I microbi intestinali, in particolare quelli dei phyla *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, possiedono un ampio repertorio di enzimi in grado di fermentare queste fibre, che li categorizza in quattro famiglie principali: glicosidi idrolasi, glicosiltransferasi, polisaccaridi liasi ed esterasi, in questo modo producono SCFA.

Nel colon, la fermentazione microbica delle fibre alimentari produce gas (metano, idrogeno e anidride carbonica), acidi grassi a catena corta (SCFA) come formiato, acetato, propionato, butirrato, acidi organici (lattato e succinato) e alcoli (metanolo ed etanolo). Tra gli SCFA, l'acetato, il propionato e il butirrato sono i più prevalenti e rappresentano una fonte significativa di energia. Questi SCFA vengono assorbiti nel colon tramite diffusione passiva o scambio ionico, contribuendo a soddisfare circa il 10% del fabbisogno energetico umano. L'acetato, presente nel sangue, è una fonte energetica per i tessuti periferici e contribuisce alla lipogenesi e alla sintesi del colesterolo nel fegato. Il butirrato, invece, funge da energia primaria per i colonociti e regola l'omeostasi energetica, stimolando la produzione di ormoni come la leptina. Inoltre, il butirrato mitiga gli effetti negativi di acidi biliari e fenoli tossici. Il propionato viene trasportato al fegato, dove funge da precursore per processi simili all'acetato.

2. Proteine e amminoacidi

Nell'intestino crasso, le proteine non digerite vengono decomposte in peptidi, amminoacidi e vari metaboliti tramite proteasi e peptidasi batteriche extracellulari. Questi metaboliti includono composti neuroattivi (ossido nitrico, triptamina, fenetilamina), solfuri (H₂S), composti aromatici (fenolo, p-cresolo, indolo), poliammine (spermina, spermidina, cadaverina), SCFA (come isobutirrato, 2-metilbutirrato e isovalerato) e ammoniaca. Alcuni di questi metaboliti, come fenolo, p-cresolo e indolo, sono stati associati a malattie come IBD, cancro del colon-retto e disfunzione renale. La fonte proteica della dieta influisce significativamente sulla composizione del microbiota intestinale: ad esempio, una dieta ricca di carne di manzo aumenta la popolazione di *Bacteroides* e *Clostridia*, riducendo l'abbondanza di

Bifidobacterium adolescentis. Al contrario, le proteine del siero di latte e dei piselli favoriscono la crescita di *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e il siero di latte inibisce anche patogeni come *Bacteroides fragilis* e *Clostridium perfringens*.

Le proteine e gli amminoacidi influenzano anche comportamenti alimentari e riproduttivi. In *Drosophila melanogaster*, i batteri commensali modulano le preferenze alimentari per specifici amminoacidi, influenzando l'assunzione di saccarosio in assenza di isoleucina. Il rapporto proteine/carboidrati nella dieta determina anche la produzione di vari neurotrasmettitori intestinali, come GABA, noradrenalina, dopamina, istamina e serotonina, che possono modulare l'asse intestino-cervello e il bilancio azotato.

3. Lipidi

Una dieta ricca di grassi (HFD) induce disbiosi microbica, aumentando adiposità e infiammazione di basso grado nel tessuto adiposo. Le diete ricche di grassi saturi incrementano *Bacteroides*, *Bilophila* e *F. prausnitzii*, mentre i grassi insaturi aumentano batteri lattici, *Bifidobacteria* e *A. muciniphila*. Gli afroamericani consumano più grassi animali e meno fibre rispetto agli africani rurali, aumentando il rischio di cancro al colon per livelli più alti di acidi biliari secondari.

4. Colina

La colina è un nutriente essenziale, solubile in acqua, che supporta l'integrità delle membrane cellulari e la neurotrasmissione colinergica. Nel microbiota intestinale, viene metabolizzata in trimetilammina (TMA), che nel fegato si converte in trimetilammina-N-ossido (TMAO), esacerbando l'infiammazione e il rischio cardiovascolare.

5. Polifenoli

I polifenoli, metaboliti secondari di molte piante, si dividono in flavonoidi e non flavonoidi, solitamente presenti come glicosidi. Il microbiota intestinale attiva questi composti rimuovendo gli zuccheri, trasformando flavoni, catechine, lignani e altri polifenoli in metaboliti attivi come gli agliconi,

assorbiti nell'intestino. I polifenoli inibiscono batteri patogeni come *Clostridium perfringens* e *Bacteroides*. Integratori come epigallocatechina-3-gallato (GCG) e resveratrolo (RES) modificano il microbiota, aumentando l'ossidazione dei grassi e riducendo *Bacteroidetes* negli uomini.

Ruolo del microbiota nell'ambito protettivo

Una mucosa intestinale intatta è fondamentale per evitare l'invasione dei microbi intestinali residenti; una sua compromissione potrebbe causare l'attivazione di una risposta immunitaria, con conseguente infiammazione.

Il microbiota intestinale aiuta a rafforzare la barriera epiteliale, contribuendo al rinnovamento delle cellule dell'epitelio intestinale e influenzando la produzione e la glicosilazione del muco, una sostanza viscosa che riveste e protegge il tessuto intestinale. Alcuni microrganismi contribuiscono anche a mantenere integre le giunzioni strette e i desmosomi, rafforzando l'adesione tra le cellule epiteliali.

La funzione protettiva del microbiota è essenziale per mantenere l'omeostasi, prevenendo l'invasione di batteri patogeni attraverso vari meccanismi. Il tratto gastrointestinale (GI) è l'impalcatura interazionale del microbiota intestinale e del sistema immunitario intestinale. La struttura del sistema immunitario intestinale, comprese le placche di Peyer e il tessuto linfoide associato all'intestino, si è sviluppata in risposta all'interazione con i commensali intestinali.

La barriera immunitaria intestinale consiste in diversi strati:

1. Strato Superficiale: Composto da muco, peptidi antimicrobici e immunoglobuline IgA, limita il contatto diretto dei commensali con le cellule epiteliali.
2. Strato intermedio: rileva e distrugge rapidamente i batteri invasori senza permettere la loro penetrazione nel tessuto intestinale.
3. Strato profondo: Coinvolge risposte immunitarie locali nella mucosa senza attivare il sistema immunitario sistemico.

Il muco, costituito da mucina secreta dalle cellule caliciformi, forma una barriera viscosa simile a un gel che protegge gli epiteli intestinali dall'attacco microbico e funge anche da lubrificante per il trasporto del contenuto intestinale. La mucina, composta da un nucleo peptidico con domini glicosilati e non glicosilati, include oligosaccaridi come N-acetilglucosamina, N-acetilgalattosammina, fucosio e galattosio, che terminano in gruppi sialici o solfati. La mucina solfatata resiste alla degradazione e impedisce l'adesione microbica diretta alle cellule epiteliali del colon. Inoltre, la mucina funge da nutrimento per i commensali, che possono produrre enzimi per sfruttare i suoi componenti come fonte di energia. Ad esempio, *Bacteroides thetaiotaomicron* produce fucosidasi per scindere il fucosio dai glicani e stimolare la secrezione di mucina dalle cellule caliciformi. *Bacteroides fragilis* sintetizza polisaccaridi capsulari fucosilati che aiutano nella colonizzazione preferenziale, mentre *Bifidobacterium bifidum* utilizza le mucine come fonte energetica. Al contrario, batteri patogeni come *Helicobacter pylori*, *Salmonella* spp., e *Escherichia coli* hanno sviluppato meccanismi per superare la barriera del muco.

I peptidi antimicrobici (AMP), tra cui defensine, catelicidine e lectine di tipo C, sono secreti dalle cellule epiteliali intestinali come enterociti, cellule caliciformi e cellule di Paneth, e sono trattenuti nel muco per limitare l'accesso di commensali e patogeni agli epiteli. Le defensine, principali AMP, includono α -defensine, prodotte costitutivamente e attivate dalla metalloproteinasi della matrice-7 (MMP-7) per difendere la mucosa microbica, e β -defensine, espresse in risposta ai segnali microbici derivati dal lume. Le lectine di tipo C partecipano all'immunità innata e adattativa, contribuendo alla regolazione dell'infezione batterica intestinale attraverso i recettori toll-like (TLR).

La terza linea di difesa è rappresentata dalle immunoglobuline IgA, che neutralizzano le tossine e i patogeni legandosi ad essi. Le IgA sono secrete dalle plasmacellule, che vengono indotte dalle cellule dendritiche attivate dai microrganismi del microbiota.

Il microbiota intestinale produce anche metaboliti che influenzano l'immunità. I carboidrati non digeriti nell'intestino tenue sono fermentati dai microbi presenti nell'intestino crasso, producendo acidi grassi a catena corta (SCFA) come acetato, propionato e butirato. Gli SCFA vengono trasportati o diffusi nelle cellule ospiti e rilevati tramite recettori accoppiati alle proteine G, situate sulle cellule epiteliali e immunitarie, attivando la produzione di citochine antinfiammatorie come TGF β e IL-10. Le poliammine, come putrescina, spermidina e spermina, prodotte attraverso la biosintesi microbica, influenzano le risposte immunitarie, abbassando i livelli di citochine pro-infiammatorie e accelerando la maturazione delle cellule T e la produzione di muco e IgA secretorie.

Ruolo del microbiota nell'ambito strutturale

L'intestino umano è rivestito da un epitelio costituito da un singolo strato di cellule colonnari, strettamente unite da complessi giunzionali intercellulari. Questi complessi regolano la permeabilità paracellulare, mantenendo l'integrità della barriera intestinale e proteggendo l'organismo dall'invasione di agenti patogeni. Le giunzioni intercellulari sono principalmente composte da giunzioni strette (zonula occludens), giunzioni aderenti (zonula adherens) e desmosomi. Le giunzioni strette, situate all'apice delle cellule epiteliali, sono fondamentali per la selettività della barriera intestinale, permettendo il passaggio selettivo di nutrienti e molecole mentre bloccano l'intrusione di sostanze dannose.

Un microbiota equilibrato è essenziale per la funzione ottimale di queste giunzioni. Tuttavia, quando si verifica una crescita eccessiva o uno squilibrio della flora commensale, noto come disbiosi, la permeabilità intestinale può aumentare. Questo fenomeno può portare a una condizione conosciuta come "leaky gut", in cui sostanze dannose penetrano attraverso l'epitelio, causando infiammazione sistemica e, nei casi più gravi, sepsi.

La permeabilità della barriera intestinale può essere influenzata da vari fattori.

Le enterotossine prodotte da patogeni batterici come E. coli enteropatogeno, C. difficile e C. perfringens possono compromettere la funzione delle

giunzioni strette, aumentando la permeabilità. Allo stesso modo, alcune citochine pro- infiammatorie, tra cui IL-4, IL-6, IL-13, IL-1 β , TNF- α e IFN- γ , possono indebolire la barriera intestinale, mentre citochine come IL-10, IL-17 e TGF- β possono rafforzarla.

La dieta e i nutrienti svolgono un ruolo significativo nel mantenimento della permeabilità intestinale. Molecole di acidi grassi, etanolo e acetaldeide possono aumentare la permeabilità, mentre nutrienti come la glutammina, il triptofano, la vitamina A e D e polifenoli come la quercetina e la curcumina contribuiscono a rafforzare la barriera intestinale. Inoltre, l'uso di probiotici come *Lactobacillus plantarum* e *E. coli* Nissle ha dimostrato di aumentare l'espressione delle proteine delle giunzioni strette, migliorando l'integrità della barriera.

In sintesi, il microbiota intestinale gioca un ruolo cruciale nella manutenzione della struttura e della funzione della barriera intestinale. Un microbiota equilibrato supporta la salute dell'epitelio intestinale, mentre uno squilibrio può portare a un aumento della permeabilità intestinale, con conseguenze potenzialmente gravi per la salute dell'organismo.

Ruolo del microbiota nell'ambito neurologico

Il microbiota intestinale svolge un ruolo cruciale nell'interazione tra l'intestino e il cervello, noto come asse intestino-cervello (GBA), attraverso una comunicazione bidirezionale. Questo asse è mediato principalmente dal sistema nervoso enterico (ENS), che è strettamente collegato al sistema nervoso centrale (SNC) attraverso il nervo vago, i gangli prevertebrali, e l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA).

Funzioni del Microbiota nell'Asse Intestino-Cervello:

Il microbiota influenza la produzione, espressione e turnover di neurotrasmettitori come la serotonina e la dopamina, cruciali per l'umore e le risposte di "combatti o fuggi".

I metaboliti batterici, come gli acidi grassi a catena corta (SCFA), stimolano la produzione di serotonina nelle cellule enterocromaffini.

Il microbiota contribuisce al mantenimento dell'integrità della barriera intestinale, modulando le giunzioni strette tra le cellule epiteliali intestinali.

Il sistema nervoso enterico, considerato il "secondo cervello", è in grado di percepire numerosi neurotrasmettitori presenti nel SNC, tra cui l'acetilcolina e la dopamina.

Questo sistema contribuisce a regolare l'umore e le funzioni cognitive.

I metaboliti prodotti dal microbiota, come gli SCFA, influenzano diverse funzioni neurologiche e sono coinvolti nel rilascio di serotonina, che può influire sulla memoria e sul processo di apprendimento.

Il microbiota modula la risposta immunitaria a livello della mucosa intestinale, influenzando indirettamente la comunicazione intestino-cervello.

La disbiosi del microbiota intestinale è associata a disturbi dell'umore e può interrompere la funzione del GBA. Prove sperimentali suggeriscono che i probiotici possano indurre fattori neurotrofici e migliorare le funzioni cognitive, oltre a ridurre il rilascio di cortisolo e i sintomi di ansia.

Alterazioni specifiche nel microbiota intestinale, come un aumento di *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*, sono state associate a Disturbi depressivi maggiori (MDD). Trattamenti probiotici hanno dimostrato di ridurre i sintomi depressivi nei pazienti con IBS.

Queste scoperte evidenziano l'importanza del microbiota intestinale nella regolazione delle funzioni neurologiche e nella modulazione di disturbi neurologici e dell'umore attraverso il GBA. L'influenza del microbiota sulla produzione di neurotrasmettitori e la sua capacità di modulare la risposta immunitaria e l'integrità della barriera intestinale sottolineano il suo ruolo fondamentale nell'interazione complessa tra l'intestino e il cervello.

1.1.4 Limiti dei test diagnostici

Nonostante i significativi progressi tecnologici nella sua comprensione del microbiota intestinale, la diagnosi accurata della sua composizione e delle sue dinamiche funzionali presenta ancora diverse sfide.

Le principali tecniche diagnostiche, come il sequenziamento del gene 16S rRNA e l'analisi metagenomica shotgun, sono limitate da una risoluzione tassonomica insufficiente, soprattutto a livello di specie e sottospecie, e dall'esclusione di componenti rilevanti come virus e funghi.

Inoltre, l'elevata variabilità intra e interindividuale del microbiota rappresenta un ulteriore ostacolo alla riproducibilità dei risultati e alla loro applicabilità clinica.

La variabilità nei risultati può anche essere influenzata da differenze metodologiche, ad esempio, l'uso di tecniche come l'ibridazione in situ fluorescente (FISH) rispetto al sequenziamento 16S può portare a discrepanze significative nell'abbondanza relativa di *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, compromettendo la comparabilità dei dati e l'affidabilità delle diagnosi.

Un altro problema critico riguarda la mancanza di standardizzazione nelle procedure di raccolta, processamento e analisi dei campioni.

Diversi studi hanno dimostrato che piattaforme diagnostiche commerciali possono produrre risultati contrastanti anche sullo stesso campione, evidenziando come l'assenza di protocolli standardizzati limiti la validità clinica di questi test.

La variabilità nella composizione del microbiota può essere ulteriormente influenzata da fattori esterni come la latitudine, l'età e il genotipo dell'ospite. Ad esempio, è stato osservato che l'abbondanza di *Firmicutes* aumenta con la latitudine, mentre quella di *Bacteroidetes* diminuisce, ma tali correlazioni sono spesso confondenti, poiché sovrapposte a variabili come l'età e lo stato fisiologico dell'individuo, rendendo complessa la definizione di parametri diagnostici universali.

In sintesi, l'attuale diagnosi del microbiota intestinale si scontra con una serie di limiti tecnici e scientifici che ne riducono l'affidabilità. La complessità del microbiota, la mancanza di protocolli condivisi e l'influenza di variabili

ambientali e legate all'ospite suggeriscono che i test oggi disponibili debbano essere interpretati con cautela. La ricerca futura dovrà focalizzarsi sullo sviluppo di tecniche più precise e sulla standardizzazione delle metodologie per garantire una diagnosi del microbiota intestinale realmente utile in contesto clinico.

CAPITOLO 2

LA DISBIOSI INTESTINALE

Negli ultimi due secoli, l'incidenza di malattie multifattoriali come diabete, obesità, allergie, asma, neurodegenerazione e malattie infiammatorie intestinali è aumentata notevolmente. Dato il breve periodo di tempo, è improbabile che questi aumenti siano dovuti solo a fattori genetici. Piuttosto, i cambiamenti nello stile di vita e nei fattori ambientali, emersi con la rivoluzione industriale, sembrano essere correlati a questo aumento. Questi cambiamenti includono alterazioni nella dieta, all'attività fisica, nell'igiene, nella longevità, nell'esposizione a sostanze chimiche e una nuova capacità umana di controllare la luce e la temperatura.

Recentemente, è stato riconosciuto che il microbioma umano, ovvero l'insieme di microrganismi che vivono nel corpo umano, gioca un ruolo significativo nella salute umana.

Il microbioma si evolve insieme al genoma umano e si adatta più rapidamente ai cambiamenti ambientali, data la sua velocità di generazione più breve rispetto a quella umana. Questa capacità di adattamento potrebbe spiegare perché le malattie moderne sono associate a un'alterazione del microbioma, o disbiosi, che influenza la composizione e la funzione delle comunità microbiche. La composizione batterica nel tratto gastrointestinale ha effetti importanti sull'omeostasi immunitaria e sul rischio di sviluppare malattie immunomediate e immuno-correlate.

Una comunità microbica intestinale sana si distingue per tre caratteristiche principali: diversità, stabilità, e capacità di resistenza e resilienza. La diversità si riferisce alla varietà all'interno dell'ecosistema microbico, la stabilità alla sua capacità di adattarsi ai cambiamenti (adattabilità alla perturbazione), e la resistenza e resilienza alla sua abilità di tornare al suo stato originale dopo una perturbazione. Il microbiota intestinale è generalmente resiliente e capace di adattarsi; quindi, un singolo fattore di solito non è sufficiente a causare disbiosi. Tuttavia, l'azione combinata di più fattori può portare a cambiamenti patologici significativi.

2.1.1 Cosa si intende per disbiosi

La disbiosi è comunemente definita come un'alterazione della composizione e della funzione del microbiota intestinale, causata da fattori ambientali e dell'ospite che alterano l'equilibrio dell'ecosistema microbico oltre le sue capacità di resistenza e resilienza. Quando la struttura del microbiota cambia in modo significativo, la disbiosi può persistere come un nuovo stato stabile, assumendo configurazioni diverse a seconda del fattore scatenante. La stabilità della comunità microbica intestinale può essere rappresentata come un paesaggio energetico concettuale, dove sia gli stati sani che quelli disbiotici possono coesistere in diverse configurazioni. Tuttavia, la transizione da uno stato all'altro richiede l'intervento di forze esterne che superano la stabilità intrinseca del sistema.

La definizione di disbiosi come stato alterato del microbiota intestinale presenta diverse limitazioni. In primo luogo, l'ampia variabilità nella composizione del microbiota tra individui sani, influenzata da fattori come geografia, età e dieta, rende difficile stabilire una popolazione di riferimento univoca. Di conseguenza, quasi ogni configurazione del microbiota potrebbe essere considerata "disbiotica" se confrontata con un determinato gruppo di controllo. È quindi essenziale non confondere una disbiosi apparente con quella reale, tenendo conto delle variabilità individuali, della trasmissione microbica da madre a figlio, delle condizioni ambientali, delle differenze nel controllo dei patogeni e di altri fattori che potrebbero spiegare deviazioni casuali nella composizione del microbioma rispetto a un gruppo di riferimento.

La vera disbiosi associata a malattia si verifica quando fattori infiammatori, genetici o dietetici scatenano un'alterazione tale da compromettere la funzione del microbiota, causando o aggravando patologie. In questi casi, un microbiota disbiotico può innescare processi patologici, come l'infiammazione cronica, che possono portare a malattie autoimmuni o metaboliche.

Quando il microbioma si adatta a condizioni ambientali modificate o a cambiamenti nello stato dell'ospite, la composizione della comunità

microbica può variare in modi che risultano essere benefici, neutri o dannosi per l'ospite. Tuttavia, tali modifiche diventano problematiche quando la comunità microbica non ritorna al suo stato originario dopo il ripristino delle condizioni ambientali, restando invece in uno stato cronico e alterato che può avere effetti negativi sull'ospite.

La disbiosi è caratterizzata tipicamente da una o più delle seguenti manifestazioni, che non si escludono a vicenda:

1. Proliferazione di patobionti. Alcuni membri del microbiota commensale, noti come patobionti, sono spesso associati a disordini infiammatori e giocano un ruolo cruciale nel danneggiare la barriera intestinale. Questi patogeni possono traslocare attraverso la barriera epiteliale, contribuendo all'infiammazione sistemica e all'aggravamento di patologie autoimmuni. Questi batteri sono solitamente presenti in piccole quantità, ma possono proliferare quando l'ecosistema intestinale subisce alterazioni. Un esempio comune è l'espansione della famiglia batterica Enterobacteriaceae, osservata nei pazienti con malattie infiammatorie intestinali (IBD), che si verifica spesso durante infezioni e infiammazioni intestinali. Tuttavia, tale proliferazione potrebbe essere una conseguenza piuttosto che una causa dell'infiammazione.
2. Perdita di commensali. La disbiosi può anche comportare una riduzione o scomparsa totale di batteri commensali, che normalmente contribuiscono all'equilibrio del microbiota. Ciò può verificarsi a causa di morte microbica o di un calo nella proliferazione di specifici batteri. La perdita di questi commensali può essere significativa e il ripristino o la reintroduzione dei loro metaboliti potrebbe invertire gli effetti della disbiosi. Per esempio, la ricolonizzazione con *Clostridium scindens* si è dimostrata efficace nel contrastare infezioni intestinali da *Clostridium difficile*.
3. Perdita di diversità. Una riduzione della diversità alfa è una caratteristica comune della disbiosi associata a malattie. La ricchezza microbica aumenta durante i primi anni di vita e può essere

influenzata da fattori come la dieta, con un impatto significativo sulla salute metabolica. Al contrario, una bassa diversità microbica è stata osservata in condizioni disbiotiche legate a una dieta povera, IBD, AIDS, diabete di tipo 1 e altre patologie.

2.1.2 Le cause della disbiosi

La disbiosi intestinale è una condizione complessa causata da una varietà di fattori alterano l'equilibrio del microbiota intestinale portando ad avere effetti variabili nel tempo e nella gravità. Questi fattori possono agire singolarmente o in combinazione, influenzando la composizione microbica e, di conseguenza, la salute dell'ospite. I principali fattori che contribuiscono alla disbiosi includono la barriera mucosale, la dieta, l'uso di farmaci, la genetica dell'ospite e altri parametri ambientali. Questi cambiamenti possono essere amplificati dallo stress ossidativo, dai batteriofagi e batteriocine. La soglia necessaria per innescare la disbiosi varia a seconda dei gruppi batterici coinvolti; ad esempio, mentre grandi cambiamenti nei phyla principali come *Bacteroidetes* e *Firmicutes* potrebbero non avere conseguenze patologiche, un aumento di gruppi batterici minori, come le *Enterobacteriaceae*, può causare danni significativi, specialmente in condizioni infiammatorie.

Barriera Mucosale e Disbiosi

La mucosa intestinale è essenziale per mantenere l'omeostasi biologica, in particolar modo funge da barriera primaria separando l'ambiente interno da quello esterno limitando l'ingresso di antigeni esterni, patogeni e microbi commensali presenti nel lume intestinale e la fuoriuscita di sostanze endogene. Questa barriera fisico-chimica è costituita da un singolo strato di cellule epiteliali che formano giunzioni strette (TJ), riducendo la permeabilità tra le cellule. Le proteine chiave delle TJ, come occludina e claudine, si associano con le proteine della zonula occludens (ZO) per connettere le giunzioni al citoscheletro di actina. La regolazione della contrattilità delle fibre di actina da parte della chinasi della catena leggera della miosina (MLCK) influisce sulla struttura e permeabilità delle TJ.

In aggiunta, la barriera mucosale include mucina, peptidi antimicrobici e IgA secreta. Questi elementi, prodotti rispettivamente dalle cellule caliciformi, dalle cellule di Paneth e dalle plasmacellule, formano una protezione aggiuntiva contro l'adesione dei microbi all'epitelio intestinale. Alterazioni nella composizione del microbiota possono compromettere la funzione di

questa barriera, portando alla disbiosi e predisponendo l'ospite a malattie sistemiche come infiammazioni croniche, malattie autoimmuni e allergie.

Dieta e Disbiosi

La dieta gioca un ruolo cruciale nella modulazione del microbiota intestinale. Cambiamenti nella dieta possono indurre modifiche transitorie nella composizione microbica, mentre un'alimentazione costante a base di carne, pesce e fibre può avere effetti duraturi influenzano significativamente il microbiota.

La carenza di nutrienti, come nel caso dell'alimentazione parenterale, può aumentare i livelli di *Proteobacteria*, promuovendo infiammazioni e danneggiando la barriera epiteliale intestinale. Al contrario, un eccesso di nutrienti, tipico dell'obesità, è associato a disbiosi e disturbi metabolici infiammatori. L'obesità è caratterizzata da una ridotta diversità microbica e un aumento dei *Firmicutes* rispetto ai *Bacteroidetes*, con conseguente maggiore rilascio di lipopolisaccaridi (LPS) nel sangue, contribuendo a uno stato di infiammazione cronica di basso grado. Inoltre, diete ricche di grassi e zuccheri possono aumentare la permeabilità intestinale, favorendo l'infiltrazione di *Escherichia coli* e riducendo lo spessore del muco protettivo. Sebbene la dieta sia solitamente una combinazione di proteine, grassi e carboidrati, e quindi l'effetto isolato di ciascun macronutriente sia difficile da determinare, diete specifiche che enfatizzano uno o due di questi macronutrienti offrono importanti indizi sulle loro rispettive influenze sul microbiota. Le diete ricche di proteine animali e aminoacidi hanno un impatto significativo sulla composizione del microbiota, aumentando la prevalenza di *Bacteroides*. Al contrario, una dieta povera di proteine e ricca di carboidrati favorisce l'aumento dei livelli di *Prevotella*. Le diete ad alto contenuto proteico aumentano anche la produzione di acidi grassi a catena ramificata e di composti tossici come solfuri e ammoniaca. L'eccessivo apporto di proteine stimola la sintesi di ossido nitrico (NO), un prodotto antimicrobico che può contribuire allo sviluppo di un microbiota associato all'obesità.

Farmaci e Disbiosi

I farmaci, in particolare antibiotici e antinfiammatori non steroidei (FANS), possono avere un impatto significativo sul microbiota intestinale, modificando la sua composizione e contribuendo alla disbiosi.

Gli antibiotici possono alterare drasticamente il microbiota intestinale. Sebbene molte alterazioni siano transitorie, alcuni antibiotici possono causare cambiamenti nel tempo. Per esempio, i macrolidi somministrati ai bambini possono ridurre in modo persistente i *Firmicutes* e *Actinobacteria*, aumentando *Bacteroidetes* e *Proteobacteria*. La ciprofloxacina, invece, riduce temporaneamente la diversità microbica negli adulti, ma può aumentare gli aerobi Gram-positivi. L'esposizione ripetuta agli antibiotici può portare alla proliferazione di batteri patogeni resistenti, come

C. difficile, particolarmente problematico negli anziani. Tuttavia, alcuni antibiotici come la rifaximina possono avere effetti eubiotici, promuovendo la crescita di batteri benefici e migliorando i sintomi in pazienti con malattie infiammatorie intestinali (IBD) o sindrome dell'intestino irritabile. L'uso di antibiotici durante lo sviluppo precoce può avere effetti a lungo termine sul sistema immunitario, compromettendo la produzione di interleuchina-4 (IL-4) e il numero di cellule T regolatorie (Treg), e aumentando la suscettibilità a condizioni come la colite e l'iperreattività delle vie aeree. Le alterazioni persistenti causate dai trattamenti antibiotici precoci sono state correlate a malattie come la malattia infiammatoria intestinale (IBD), l'asma e la dermatite atopica in età adulta.

- Farmaci Antinfiammatori Non Steroidei (FANS): L'uso prolungato di FANS come aspirina, ibuprofene e naprossene altera la composizione del microbiota, aumentando l'abbondanza di *Bacteroidaceae* ed *Enterobacteriaceae*. Questi farmaci possono anche contribuire a condizioni come la diarrea associata a *Clostridium difficile* e l'encefalopatia epatica nei pazienti cirrotici, soprattutto quando combinati con inibitori della pompa protonica (IPP). Anche farmaci come la metformina, utilizzata per il diabete di tipo 2, modificano la composizione del microbiota intestinale, aumentando specificamente i livelli di *E. coli*.

- **Regolazione Microbica dei Farmaci:** Molti farmaci sono metabolizzati dai batteri intestinali, influenzando la loro biodisponibilità e l'efficacia terapeutica. Ad esempio, la simvastatina e il prednisolone sono metabolizzati da enzimi batterici, mentre l'irinotecan viene riattivato nell'intestino da glucuronidasi batteriche, aumentando la tossicità intestinale.

Genetica e Disbiosi

La genetica dell'ospite può influenzare la composizione del microbiota e predisporre a disbiosi. Alcuni geni, come quelli coinvolti nella produzione di peptidi antimicrobici, possono determinare la capacità dell'ospite di mantenere un equilibrio microbico sano. Ad esempio, le mutazioni in geni come *NOD2* e *XBPI* sono state associate a un aumento della suscettibilità a infezioni e infiammazioni croniche, favorendo uno stato di disbiosi.

Trasmissione Materna e Modalità di Parto

La colonizzazione intestinale precoce è influenzata dal microbiota materno e dalla modalità di parto. I neonati nati per via cesarea, ad esempio, possono avere una composizione microbica diversa rispetto a quelli nati per parto vaginale, con potenziali implicazioni per lo sviluppo della disbiosi.

Altri parametri, come l'interruzione circadiana, la gravidanza, e le condizioni ambientali, possono influenzare la composizione microbica intestinale. Ad esempio, l'esposizione al freddo ha mostrato di aumentare i *Firmicutes* a scapito dei *Bacteroidetes* nei topi, un cambiamento che è stato osservato anche negli esseri umani che vivono ad alta quota.

2.1.3 Le possibili conseguenze della disbiosi

La disbiosi intestinale, caratterizzata da un'alterazione dell'equilibrio microbico nell'intestino, può avere impatti significativi sulla salute dell'ospite. Poiché il sistema immunitario è strettamente collegato alla configurazione del microbiota, esso agisce sia come regolatore che come effettore delle risposte legate alla disbiosi. Comprendere l'interazione tra sistema immunitario e microbiota è fondamentale per valutare le conseguenze dirette e indirette di uno stato disbiotico.

Relazione tra microbiota e sistema immunitario

Il sistema immunitario innato, attraverso recettori di riconoscimento dei pattern (PRR) come i Toll-like receptors (TLR) e i recettori NOD-like (NLR), modula la risposta immunitaria intestinale e influenza la colonizzazione microbica. Disfunzioni nei percorsi di segnalazione, ad esempio a livello di proteine come MYD88 o NOD2, possono alterare la composizione del microbiota, predisponendo a condizioni infiammatorie o persino oncologiche. Inoltre, proteine come NLRP6, coinvolte nella formazione dell'inflammasoma, sono cruciali nella stabilizzazione della comunità microbica intestinale. La loro carenza può portare a disbiosi ed un aumento della suscettibilità a condizioni come la colite e la sindrome metabolica. Le cellule epiteliali intestinali contribuiscono al mantenimento dell'omeostasi microbica, secernendo peptidi antimicrobici, come le α -defensine, che regolano l'ecologia microbica.

Parallelamente, il sistema immunitario adattativo interviene nel controllo del microbiota tramite le cellule B e la produzione di IgA secretorie, che modulano l'equilibrio microbico impedendo la proliferazione di specifici batteri patogeni quindi l'insorgenza di disbiosi. Le cellule T CD4+ e le cellule T natural killer invariati (iNKT) partecipano attivamente alla regolazione della flora batterica, evidenziando l'importanza di entrambi i rami del sistema immunitario nel mantenimento dell'omeostasi e nella prevenzione dello squilibrio.

Una volta instaurata la disbiosi, essa influenza sia il microambiente mucosale locale sia il panorama sistemico delle cellule immunitarie, generando un ciclo di feedback continuo in cui microbiota e sistema immunitario si regolano reciprocamente. I microrganismi intestinali possono modulare l'attivazione immunitaria attraverso segnali epigenetici e alterazioni nell'espressione genica, contribuendo al mantenimento dello squilibrio. Due meccanismi principali sostengono questo stato: da un lato, i patobionti – batteri

opportunisti che emergono in condizioni infiammatorie – perpetuano l'infiammazione e favoriscono la loro proliferazione; dall'altro, un microbiota disbiotico può essere trasmesso a nuovi ospiti, influenzando la loro risposta immunitaria e modificando la colonizzazione microbica.

Il microbiota disbiotico modula il sistema immunitario innato attraverso componenti cellulari e metaboliti. Ad esempio, alterazioni nelle firme molecolari microbiche, come il lipopolisaccaride (LPS), possono attivare diverse risposte immunitarie, contribuendo a malattie autoimmuni. Batteri come *Porphyromonas gingivalis*, tipici della cavità orale, manipolano la risposta immunitaria dell'ospite, degradando la proteina MYD88 e promuovendo un'infiammazione cronica che perpetua la disbiosi.

Inoltre, il microbiota intestinale è essenziale per la maturazione delle cellule mieloidi nel midollo osseo, fondamentali per la risposta immunitaria contro le infezioni. L'assenza di una comunità microbica equilibrata compromette la funzione di neutrofilo e cellule dendritiche, aumentando la vulnerabilità alle infezioni e alle allergie.

Anche il sistema immunitario adattativo è influenzato dalla disbiosi, ad esempio attraverso la degradazione delle IgA secretorie da parte di specie come *Sutterella*, che ne riduce i livelli di queste immunoglobuline, aumentando la suscettibilità all'infiammazione intestinale. Questi meccanismi evidenziano come i microrganismi intestinali non siano semplici spettatori, ma attori attivi nella regolazione dell'omeostasi e della risposta immunitaria.

Un aspetto cruciale è il coinvolgimento del microbiota nella regolazione delle cellule T helper 17 (TH17), un sottogruppo di cellule CD4⁺ TH, che svolgono un ruolo fondamentale sia nella difesa immunitaria che nella progressione di malattie autoimmuni. La maturazione delle cellule TH17 è fortemente influenzata dal microbiota, come dimostrato dalla riduzione di queste cellule nei modelli animali privi di germi o trattati con antibiotici. I batteri segmentati filamentosi (SFB) sono particolarmente importanti in questo processo, stimolando l'espressione di citochine pro-infiammatorie necessarie per la differenziazione delle cellule TH17.

Il microbiota intestinale influisce anche sulla generazione delle cellule T regolatorie (TReg), un altro sottogruppo di cellule CD4⁺ TH che accumulandosi nell'intestino, gioca un ruolo cruciale nel mantenimento dell'omeostasi intestinale. La diminuzione delle cellule TReg può portare a un'espansione delle cellule TH specifiche per i batteri commensali, contribuendo all'infiammazione intestinale. Specie batteriche come *Bacteroides fragilis* e vari ceppi di *Clostridium*, possono indurre la generazione di TReg, probabilmente attraverso l'attivazione di TGF- β nelle cellule epiteliali.

Il microbiota regola anche la risposta delle cellule B intestinali, influenzando la produzione di immunoglobuline come IgA e IgE. L'IgA, la classe di immunoglobuline predominante nella mucosa intestinale, gioca un ruolo chiave nel limitare l'adesione dei batteri commensali all'epitelio intestinale e nel prevenire la loro disseminazione, contribuendo al mantenimento del mutualismo ospite-microbiota. Disfunzioni nella produzione di IgA, causate ad esempio da mutazioni, possono alterare la composizione del microbiota e compromettere l'equilibrio immunitario. Inoltre, il microbiota intestinale supporta la differenziazione delle cellule B che producono IgA attraverso l'induzione di fattori immunitari come TNF e iNOS.

Infine, il microbiota intestinale contribuisce al mantenimento dei livelli basali di IgE, riducendo l'intensità delle risposte allergiche e prevenendo accumuli anomali di IgE nel siero, come osservato nei topi privi di germi. Questo

suggerisce che una corretta esposizione microbica durante l'infanzia sia essenziale per l'induzione di una regolazione immunitaria appropriata. Nel complesso, il microbiota intestinale emerge come un attore cruciale nella modulazione delle risposte immunitarie, contribuendo sia alla difesa dell'ospite che al mantenimento dell'omeostasi immunitaria.

Le conseguenze della disbiosi intestinale possono coinvolgere vari sistemi dell'organismo, contribuendo a una vasta gamma di malattie e condizioni patologiche:

1. **Malattie Gastrointestinali:** Disordini come la sindrome dell'intestino irritabile (IBS), la malattia infiammatoria intestinale (IBD) e la colite sono strettamente associati alla disbiosi.
2. **Disturbi Metabolici:** Alterazioni nel microbiota possono contribuire a condizioni come obesità, diabete di tipo 2 e sindrome metabolica.
3. **Compromissione del Sistema Immunitario:** La disbiosi può portare a infiammazioni croniche e malattie autoimmuni come l'artrite reumatoide.
4. **Problemi Neurologici:** L'asse intestino-cervello collega la disbiosi a disturbi come ansia, depressione e persino malattie neurodegenerative.
5. **Infezioni e Malattie Cardiovascolari:** Un microbiota sbilanciato può favorire infezioni e aumentare il rischio di malattie cardiovascolari.
6. **Aumento della Permeabilità Intestinale:** Nota come "leaky gut", questa condizione permette alle tossine e ai batteri di entrare nel flusso sanguigno, causando infiammazione sistemica.

La disbiosi intestinale non solo è associata a diverse malattie infiammatorie, ma contribuisce anche a meccanismi che disturbano l'omeostasi intestinale e inducono infiammazione cronica. Uno dei meccanismi chiave attraverso cui la disbiosi può innescare infiammazione è la traslocazione batterica attraverso l'epitelio intestinale. In condizioni normali, un piccolo numero di batteri commensali che attraversano l'epitelio viene rimosso dalle cellule Th1 e Th17, indotte da polisaccaridi presenti in batteri come *Bacteroides spp.* e *SFB* (Segmented Filamentous Bacteria) che aderiscono alla mucosa. Tuttavia, in condizioni di disbiosi, un numero elevato di batteri invasori può attivare

continuamente i recettori toll-like (TLR) e provocare un'over-espressione di citochine pro-infiammatorie. Questo processo danneggia l'epitelio intestinale e conduce a un'infiammazione intestinale cronica, che è associata a diversi disturbi metabolici, inclusi il diabete autoimmune.

Durante l'infiammazione intestinale, si verifica stress ossidativo, un processo che riduce drasticamente la diversità microbica nell'intestino e promuove la crescita selettiva di specifici taxa batterici. L'infiltrazione di leucociti è un segno caratteristico di questa condizione, che porta alla produzione di specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto. Queste specie hanno un'azione antimicrobica, mirando principalmente ai batteri anaerobici, ma possono anche favorire la crescita di alcuni batteri come le Enterobacteriaceae attraverso la respirazione di nitrati e tetrati. L'uso di antibiotici o condizioni che aumentano lo stress ossidativo possono quindi irritare ulteriormente la disbiosi, favorendo la crescita di patobionti potenzialmente dannosi.

In sintesi, lo stato di omeostasi intestinale, che è essenziale per la salute generale, può essere compromesso sia dalle interazioni disfunzionali tra microbiota e sistema immunitario che dagli effetti diretti dello stress ossidativo sull'ecosistema microbico intestinale. Questa complessa interazione sottolinea l'importanza di considerare il microbiota intestinale come un attore cruciale nella salute e nella malattia, influenzando direttamente e indirettamente molteplici aspetti della fisiologia umana.

SOGGETTI MATERIALI E METODI

Questo studio è stato condotto con l'obiettivo di analizzare lo stato del microbiota intestinale in soggetti affetti da obesità o sovrappeso di terzo grado, utilizzando tecniche di sequenziamento di nuova generazione.

I partecipanti sono stati reclutati presso The Performance Lab, un'azienda di salute e benessere specializzata in percorsi di medicina di precisione.

All'interno di questa realtà viene trattato il biohacking di precisione, una pratica

innovativa che combina tecniche di medicina di precisione, strategie di biohacking e monitoraggi costanti per potenziare la salute psico-fisica, prevenendo le malattie, per innalzare i livelli di energia e massimizzare la performance di mente e corpo, e aumentare la longevità invertendo il processo di invecchiamento.

La selezione dei soggetti è avvenuta a partire dalla fine di febbraio 2024, garantendo una finestra di osservazione di almeno sei mesi. Sono stati inclusi nello studio un totale di 15 pazienti, selezionati in base a criteri specifici di inclusione ed esclusione.

I partecipanti allo studio hanno seguito un percorso di medicina di precisione, sviluppato sulla base dei risultati del test del microbiota. Il piano terapeutico includeva modifiche dietetiche personalizzate, integrate con l'uso di probiotici e prebiotici specifici per correggere le disbiosi identificate. Il supporto ai pazienti è stato fornito da un gruppo multidisciplinare composto da nutrizionisti, biohacker e personal trainer, i quali hanno lavorato in sinergia per ottimizzare i risultati. Questo gruppo ha condotto incontri periodici con ciascun paziente, utilizzando metriche specifiche per monitorare i progressi, come la variazione della composizione corporea, i miglioramenti nei parametri metabolici, e i cambiamenti nella qualità della vita riportati dai pazienti. L'obiettivo era non solo correggere le disbiosi, ma anche migliorare lo stato di salute generale, ottimizzando la performance fisica e mentale.

3.1.1 Criteri di inclusione ed esclusione

Criteri di inclusione:

1. Stato di Sovrappeso: I partecipanti dovevano presentare una diagnosi di obesità o sovrappeso di terzo grado, definita da un indice di massa corporea (BMI) superiore a 40.
2. Et : Non sono state imposte restrizioni di et ; sono stati ammessi pazienti di qualsiasi fascia di et .
3. Numero di Partecipanti: Lo studio ha coinvolto un massimo di 15 pazienti, in linea con le risorse disponibili e la capacit  di garantire un monitoraggio accurato.
4. Terapia Farmacologica Ammessa: Sono stati inclusi i soggetti che assumevano farmaci calcio antagonisti (es. nifedipina, amlodipina) o ACE-inibitori (es. enalapril, ramipril).

Criteri di esclusione:

1. Terapia Farmacologica: Sono stati esclusi dallo studio i soggetti che assumevano farmaci β -bloccanti (es. atenololo, bisoprololo) o diuretici (es. clorotiazide, acetazolamide), poich  questi farmaci possono interferire significativamente con il metabolismo e la composizione del microbiota.

3.1.2 Analisi Effettuate

I campioni fecali sono stati prelevati dai partecipanti utilizzando kit specifici forniti dall'azienda, appositamente progettati per il test del microbiota.

Il procedimento di campionamento prevedeva che i partecipanti strofinassero una bacchetta cotonata, contenuta all'interno della provetta, sulle feci in modo da recuperare un sottile strato di materiale sul cotone. Non era necessario prelevare una quantità eccessiva di campione; la verifica visiva dell'avvenuto campionamento era facilitata dal cambiamento di colore del tampone, che passava dal bianco al marrone.

Era fondamentale raccogliere campioni esclusivamente da feci solide, non contaminate da urine o dall'acqua di scarico. Dopo il prelievo, la bacchetta veniva riposta all'interno della provetta, permettendo il rilascio di parte del materiale biologico nel liquido di conservazione. Questo liquido di conservazione viene ad essere utilizzato per mantenere intatto il DNA microbico, garantendo una conservazione prolungata prima dell'analisi. Questa scelta metodologica si allinea con le migliori pratiche attualmente adottate nel campo della ricerca per garantire la qualità e l'accuratezza dei dati microbici.

La validità di questo approccio è ampiamente supportata da ricerche recenti, come ad esempio, uno studio di Franzona et al. (2014) ha evidenziato che i campioni fecali conservati in soluzioni stabilizzanti presentano profili di comunità microbiche estremamente simili a quelli ottenuti a temperatura ambiente per diversi giorni. Questa scoperta conferma che l'uso di liquidi di conservazione è efficace nel preservare l'integrità delle comunità batteriche, riducendo la degradazione del DNA microbico.

Parallelamente, Song et al. (2016) hanno dimostrato che l'utilizzo di stabilizzanti può conservare efficacemente il DNA microbico a temperatura ambiente per un periodo di almeno 14 giorni, un risultato particolarmente rilevante per studi che richiedono la raccolta di campioni in ambienti non controllati, dove l'accesso immediato al congelamento non è possibile.

Inoltre, il lavoro di Choo et al. (2015) ha ulteriormente confermato l'efficacia di questa metodologia, dimostrando che l'uso di liquidi di conservazione

minimizza le variazioni della composizione del microbiota durante la conservazione e il trasporto. Questo approccio riduce significativamente i rischi di alterazione delle comunità microbiche dovuti al tempo o alle condizioni di stoccaggio, preservando l'autenticità del campione.

Quindi l'utilizzo di provette contenenti un liquido di conservazione rappresenta un metodo affidabile e collaudato per la raccolta e la conservazione di campioni fecali, garantendo la stabilità del microbiota e riducendo le possibili variazioni che potrebbero influenzare i risultati.

Gli esperimenti di sequenziamento di nuova generazione, che comprendono l'estrazione del DNA e l'analisi bioinformatica primaria, sono stati eseguiti da NEXT Genomics S.r.l. (Sesto Fiorentino, Firenze, Italia).

L'estrazione del DNA è stata eseguita con QIAamp® Fast DNA Stool (Qiagen), un metodo standardizzato per l'ottenimento di DNA microbico di alta qualità. Durante il processo di estrazione è stato utilizzato un controllo negativo, costituito da tutti i reagenti utilizzati durante l'elaborazione del campione (amplificazione 16S e preparazione della libreria), per garantire l'assenza di contaminazioni. La resa finale e la qualità del DNA estratto sono state determinate utilizzando lo spettrofotometro NanoDropOne (Thermo Scientific, Waltham, MA) e il Qubit Fluorometer 2.0 (Invitrogen Co., Carlsbad, CA).

L'amplificazione delle regioni ipervariabili V3 e V4 del gene 16S è stata effettuata utilizzando i primer specifici: Forward: 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' e Reverse: 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3' (Klindworth et al., 2013). Ogni reazione di PCR è stata assemblata secondo la preparazione della libreria di

sequenziamento metagenomico (Illumina, San Diego, CA). Ogni campione è stato dotato di tag indicizzati univoci per consentire l'identificazione post sequenziamento. Le librerie sono state quantificate con il fluorimetro Qubit (Invitrogen Co., Carlsbad, CA) e raggruppate in una quantità equimolare di ciascun campione con tag indicizzato, a una concentrazione finale di 4 nM,

inclusa la libreria di controllo Phix. I campioni in pool sono stati sottoposti a generazione di cluster e sequenziati sulla piattaforma MiSeq (Illumina, San Diego, CA) in un formato 2x250 paired-end.

Le sequenze ottenute sono state sottoposte a controllo di qualità utilizzando FastQC per rimuovere letture di bassa qualità.

Le sequenze sono state poi analizzate con il software QIIME 2, utilizzando il database Greengenes per la classificazione tassonomica. Le letture sono state classificate a vari livelli tassonomici come regno, phylum, classe, ordine, famiglia, genere e specie.

Questa analisi ha permesso di determinare la composizione microbica di ciascun campione e di confrontarla con i valori di riferimento per soggetti sani.

L'analisi dei funghi presenti nel campione fecale viene effettuata attraverso tecniche di microbiologia classica. Il campione di feci viene inoculato in specifici terreni di coltura, che forniscono un ambiente favorevole alla crescita di funghi. Le piastre vengono incubate per un periodo di tempo adeguato a consentire lo sviluppo di colonie fungine, se presenti.

Se al termine del periodo di incubazione non si osserva la crescita di colonie fungine, si conclude che i tipi specifici di funghi ricercati non sono presenti nel campione. Tuttavia, è importante notare che l'assenza di crescita fungina su queste piastre non esclude la presenza di altri tipi di funghi nel microbiota intestinale, ma indica solo che i funghi specifici ricercati non sono rilevabili con questo metodo.

Genere	Intestino	Correlazione
Candida spp.	●	Disbiosi intestinale, disregolazione del sistema immunitario, elevata assunzione di antibiotici, può determinare candidosi intestinale. Inoltre può essere un serbatoio per lo sviluppo di candidosi della bocca (mughetto) e candidosi vaginale.
Aspergillus spp.	●	Le spore sono comunemente presenti nel cibo e nell'ambiente e possono essere ingerite senza fare danni. Questo fungo può diventare un patogeno in caso di aumento della secrezione acida, alterazione della barriera della mucosa o ulcere.
Penicillium spp.	●	Tra le principali cause della deteriorazione degli alimenti, inoltre alcune specie di vengono utilizzate anche per la produzione di formaggi con muffa. Si può riscontrare nell'intestino in seguito al consumo di alimenti contaminati.
Malassezia spp.	●	Dominante a livello della cute, talvolta anche presenti nell'intestino, dove l'incremento di questo fungo è correlato a malattie infiammatorie intestinali (IBD), inoltre una dieta ricca di lipidi può favorire la crescita nell'intestino tenue.

In particolare, vengono ricercati quattro tipi specifici di funghi, tra cui la Candida. La Candida è un fungo commensale, normalmente presente nel

tratto gastrointestinale. Quando viene rilevata la presenza di Candida, si procede con l'identificazione della specie specifica. Successivamente, viene eseguita un'analisi della resistenza agli antibiotici (antibiogramma) per determinare la sensibilità del ceppo fungino isolato ai trattamenti antimicotici.

Specie	Candida albicans	Candida dubliniensis	Candida glabrata	Candida krusei	Candida parapsilosis	Candida tropicalis
Intestino	●	●	●	●	●	●
Amfotericina B						
Caspofugina						
Flucitosina						
Fluconazolo						
Itraconazolo						
Miconazolo						
Nistatina						
Posaconazolo						
Voriconazolo						

Presente | Assente

 Sensibile | Intermedio | Resistente

L'analisi dei virus presenti nel campione fecale viene condotta utilizzando un approccio basato sull'interazione antigene-anticorpo, simile ai test diagnostici utilizzati per rilevare infezioni virali come il COVID-19. Questo metodo si basa sull'identificazione di antigeni virali specifici nel campione, che indicano la presenza di una particolare infezione virale.

In questo studio, vengono ricercati tre virus specifici. Il test non fornisce una quantificazione della carica virale, ma indica solo la presenza o assenza di questi virus nel campione. La metodologia adottata permette di rilevare la presenza di virus anche in assenza di sintomi clinici evidenti, offrendo una visione dettagliata della possibile interazione tra virus e microbiota intestinale.

Genere	Intestino	Correlazione
Adenovirus spp.	●	Particolarmente resistenti al pH acido dello stomaco, riescono a raggiungere facilmente l'intestino dove possono moltiplicarsi e determinare gastroenteriti con nausea e mal di stomaco, vomito, dolori addominali e diarrea.
Norovirus spp.	●	Virus a RNA responsabili della maggior parte delle gastroenteriti, in genere provocano vomito a esordio acuto, dolori addominali, crampi e diarrea, con sintomi che si risolvono rapidamente. Possono causare anche febbre, cefalea e mialgie.
Rotavirus spp.	●	Virus a RNA, con incidenza stagionale che determina infiammazione gastrointestinale con insorgenza di diarrea acquosa, nausea, vomito, febbre lieve, malessere generalizzato e dolori addominali.

Presente | Assente

L'analisi dei parassiti viene effettuata mediante microscopia ottica. Il campione fecale viene esaminato al microscopio da un operatore umano, che valuta la presenza di parassiti visibili a occhio nudo. Questo metodo permette di identificare parassiti di varie dimensioni, da quelli microscopici a quelli macroscopici.

L'analisi è mirata a rilevare tutti i parassiti noti che possono essere presenti nel tratto gastrointestinale umano. A differenza delle analisi per funghi e virus, questa metodica si basa sull'osservazione diretta e non richiede processi di coltura o reazioni immunologiche. La sensibilità del test dipende dall'esperienza dell'operatore e dalla qualità del campione, ma è generalmente considerata un metodo efficace per rilevare la presenza di parassiti intestinali.

Specie	Intestino	Specie	Intestino	Specie	Intestino
Entamoeba histolytica		Balantidium coli		Trichuris trichiura (Tricocefalo)	
Entamoeba dispar		Cryptosporidium spp.		Trychostrongylus spp.	
Entamoeba coli		Sarcocystis spp.		Ancylostoma spp.	
Entamoeba hartmanni		Cyclospora cayentanensis		Necator americanus (Anchilostoma)	
Endolimax nana		Cystoisospora belli		Taenia saginata (Tenia dei bovini)	
Iodamoeba butschlii		Enterobius vermicularis (Ossiuoro)		Taenia asiatica	
Giardia duodenalis		Strongyloides stercoralis		Taenia solium (Verme solitario)	
Dientamoeba fragilis		Ascaris lumbricoides			

Amebe patogene (protozoi)	Flagellati patogeni (protozoi)	Coccidi (protozoi)	Cestodi (elminti o vermi)
Amebe non patogene (protozoi)	Ciliati (protozoi)	Nematodi (elminti o vermi)	Assente

Per l'analisi dei dati raccolti, sono state utilizzate diverse tecniche statistiche al fine di esplorare le relazioni tra le variabili microbiotiche e i parametri di salute nei soggetti sovrappeso. Inizialmente, sono state calcolate le statistiche descrittive (media, mediana, deviazione standard, minimo e massimo) per tutte le variabili misurate, con l'obiettivo di caratterizzare il campione di studio. Successivamente, è stata condotta un'analisi bivariata per identificare le relazioni tra le variabili principali, con particolare attenzione al rapporto Firmicutes/Bacteroidetes (F/B). Le correlazioni sono state misurate utilizzando il coefficiente di Perason, con un intervallo di confidenza al 95% e valori p per determinare la significatività statistica. Le relazioni sono state considerate statisticamente significative per valori di p inferiori a 0,05.

Per visualizzare tali relazioni, sono stati creati grafici a dispersione con rette di regressione lineare, accompagnati dall'equazione della retta e dal coefficiente di determinazione (R^2), per quantificare la forza delle relazioni lineari. Successivamente, è stata eseguita una modellizzazione multivariata tramite regressione lineare utilizzando il metodo dei minimi quadrati ordinari. Il rapporto F/B è stato utilizzato come variabile dipendente. La selezione delle variabili è stata effettuata con un approccio di eliminazione backward, partendo da un modello completo e rimuovendo progressivamente le variabili non significative.

Per il modello finale, sono stati calcolati i coefficienti con i rispettivi errori standard, valori t e p per valutare la significatività statistica delle variabili indipendenti ($p < 0,05$). Tuttavia, data la dimensione ridotta del campione ($n=15$), i risultati sono stati interpretati con cautela, riconoscendo le potenziali limitazioni in termini di potenza statistica e generalizzabilità.

In un sottogruppo di tre soggetti che hanno ripetuto l'analisi fecale dopo un intervento personalizzato di medicina di precisione, è stata eseguita un'analisi descrittiva delle variazioni percentuali medie per ciascun parametro pre e post-intervento. Poiché il sottocampione era molto ridotto, non sono stati effettuati test di significatività statistica per i dati longitudinali.

3.1.3 Dati

In questo studio, sono state raccolte e analizzate diverse variabili cliniche, microbiotiche e comportamentali, con l'obiettivo di comprendere meglio la relazione tra il microbiota intestinale e lo stato di obesità nei partecipanti. Le principali variabili considerate sono suddivise in tre categorie: cliniche, microbiotiche e comportamentali.

Variabili Cliniche

- **Indice di Massa Corporea (BMI):** Il BMI, è uno strumento utile per le indagini metaboliche e per un rapido screening iniziale, ma non è accurato per predire il rischio di malattie metaboliche o la composizione corporea effettiva. Questo perché il BMI si basa su l'altezza e il peso, non tenendo conto di fattori importanti come la distribuzione del grasso corporeo o la quantità di massa muscolare. Ad esempio, persone con un alto BMI possono avere un'elevata massa muscolare, mentre persone con un BMI normale possono comunque avere un'alta percentuale di grasso viscerale, che è associato a un rischio maggiore di malattie cardiovascolari e metaboliche. Pertanto, in assenza di un'analisi più accurata della composizione corporea, il BMI da solo non fornisce un quadro completo dello stato di salute di un individuo.
- **Età e Sesso:** Il campione era composto da soggetti di età variabile e, dal punto di vista della distribuzione di genere, il 75% dei partecipanti erano uomini e il 25% donne. Non sono state riscontrate correlazioni significative tra sesso o età e la composizione del microbiota.
- **Farmaci Assunti:** La documentazione dei farmaci assunti, inclusi i calcio-antagonisti e gli ACE-inibitori, ha permesso di escludere possibili interferenze sul microbiota. I soggetti che assumevano β -bloccanti e diuretici sono stati esclusi per evitare effetti confondenti.

Variabili Microbiotiche

- **Protezione Intestinale (Protezione):** Questo parametro valuta l'efficacia della barriera intestinale nel proteggere l'organismo da

agenti patogeni e tossine. I risultati hanno mostrato una media di 28,6 con una variabilità significativa tra i soggetti (min = 4,76, max = 57,1).

- **Indice di Permeabilità Intestinale (Leaky Gut):** L'indice di permeabilità intestinale è stato analizzato per valutare la presenza di infiammazione e danni alla barriera intestinale. I dati raccolti hanno mostrato un valore medio di 18,1, con una notevole variabilità (min = 0, max = 50).
- **Indice di Disbiosi:** Questo parametro misura lo squilibrio del microbiota intestinale. Il valore medio dell'indice di disbiosi nel campione è risultato essere 37,0 ($\pm 13,3$), indicando una disbiosi significativa nella maggior parte dei soggetti obesi analizzati.
- **Diversità delle Popolazioni Microbiche:** Sono state misurate le principali popolazioni batteriche presenti nell'intestino dei partecipanti, con un focus su sei phyla: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Cyanobacteria* e *Actinobacteria*. Il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes* (FB), usato come indicatore della salute intestinale, ha mostrato una media di 1,19, suggerendo un possibile squilibrio microbico associato all'obesità. In particolare, si è osservato che il 63% delle popolazioni batteriche era rappresentato dai *Firmicutes*, mentre i *Bacteroidetes* costituivano solo il 27%.
- **Indice di Biodiversità:** È stato calcolato l'indice di biodiversità per ogni soggetto. Un indice di biodiversità più elevato è associato a una migliore salute intestinale. I valori medi dell'indice si attestavano intorno a 0,251 ($\pm 0,0480$), con una riduzione della biodiversità osservata nei soggetti con diete ricche di grassi e zuccheri.
- **Potenziale di Longevità (Pot_Longevità):** Questo parametro riflette la capacità del microbiota di contribuire alla salute a lungo termine. Nei soggetti obesi, il potenziale di longevità misurato ha mostrato valori medi di 0,434, suggerendo una ridotta capacità di supportare un invecchiamento sano rispetto a popolazioni sane.

- Protezione Cardiovascolare (Prot_Cardio): Livelli più bassi di determinati batteri intestinali sono stati correlati con un aumento del rischio cardiovascolare. Nel nostro studio, il valore medio per la protezione cardiovascolare era di 0,412, con un coefficiente di correlazione positivo (0,75) con la presenza di *Firmicutes*, suggerendo una relazione tra questi batteri e la protezione cardiaca.
- Rischio Cardiovascolare: L'indice di rischio cardiovascolare derivato dall'analisi del microbiota ha mostrato una media di 0,135, con una correlazione inversa con il rapporto F/B, suggerendo che uno squilibrio microbico potrebbe essere associato a un aumento del rischio cardiovascolare.
- TMAO: Alcuni studi hanno dimostrato che alti livelli di TMAO nel sangue sono associati a un maggiore rischio di eventi cardiovascolari. Nel nostro campione, il TMAO ha mostrato una correlazione negativa con la salute intestinale (coefficiente negativo), supportando le evidenze precedenti che legano questa molecola a un maggiore rischio di malattie cardiache.

Variabili Comportamentali e Dietetiche

- Abitudini Alimentari: durante tutto il percorso i soggetti all'interno dello studio sono stati seguiti da nutrizioniste, le quali hanno individuato piani alimentari personalizzati e specifici in base alle esigenze ed ai report di ciascun partecipante. I dati emersi, ad esempio, le diete ricche ad alto contenuto di grassi e zuccheri, hanno permesso di analizzare l'impatto della dieta sulla composizione del microbiota intestinale.
- Stile di Vita: Informazioni sull'attività fisica, sul sonno e altre abitudini di vita sono state analizzate per valutare la loro influenza sul microbiota intestinale.
- I dati raccolti forniscono una base solida per l'analisi del rapporto tra la composizione del microbiota e lo stato di obesità nei partecipanti. L'analisi delle variabili chiave, come il rapporto

Firmicutes/Bacteroidetes, l'indice di disbiosi e la protezione intestinale, permette di identificare gli squilibri presenti nei soggetti in sovrappeso e di metterli in relazione con parametri di rischio cardiovascolare. I risultati, che verranno presentati nella sezione successiva, evidenziano una connessione tra le alterazioni del microbiota e lo stato di salute generale dei soggetti.

IL BIOHACKING

All'interno del percorso terapeutico personalizzato offerto ai partecipanti, un ruolo centrale è rivestito dal biohacking di precisione, un approccio innovativo che unisce tecniche avanzate di medicina, scienza nutrizionale, e tecnologia per ottimizzare la salute e le performance fisiche e mentali.

Il biohacking può essere definito come l'arte e la scienza di modificare l'ambiente interno ed esterno del corpo per ottenere benefici ottimali per la salute, la longevità, e la performance.

Componenti del Biohacking di Precisione

Il biohacking di precisione, come praticato in The Performance Lab, si articola in diverse componenti, ciascuna delle quali è mirata a migliorare specifici aspetti della salute dei partecipanti:

- Monitoraggio Avanzato: L'utilizzo di dispositivi wearable e tecnologie digitali per monitorare costantemente variabili fisiologiche, come la frequenza cardiaca, la variabilità della frequenza cardiaca (HRV), i livelli di glucosio nel sangue, il sonno, e la composizione corporea. Questi dati vengono raccolti in tempo reale e analizzati per personalizzare ulteriormente le strategie terapeutiche.
- Ottimizzazione della Nutrizione: I piani dietetici personalizzati non si limitano a correggere le disbiosi, ma sono anche progettati per supportare i livelli di energia, migliorare le funzioni cognitive, e promuovere il benessere generale. Vengono integrati cibi funzionali, integratori specifici, e protocolli di digiuno intermittente, tutti scelti in base ai bisogni unici di ciascun paziente, come determinato dai dati del microbiota e dai risultati di monitoraggio.
- Interventi Ambientali: Modifiche dell'ambiente esterno, come l'esposizione alla luce naturale o a specifiche lunghezze d'onda della luce (ad esempio, luce rossa per migliorare la qualità del sonno), la regolazione della temperatura (terapie del freddo o del calore), e

l'utilizzo di tecniche di earthing (camminare a piedi nudi su superfici naturali per migliorare il grounding elettrico del corpo).

- Modulazione Neurocognitiva: Tecniche come la meditazione guidata e l'uso di sostanze nootrope (integratori che migliorano la funzione cognitiva) vengono integrate per ottimizzare la salute mentale e le prestazioni cognitive. Questi interventi sono personalizzati in base ai dati raccolti dal monitoraggio delle funzioni cerebrali e dallo stato emotivo del paziente.
- Tecniche di Recupero e Longevità: Vengono utilizzate tecniche avanzate come la crioterapia e la fotobiomodulazione (terapia della luce) per accelerare il recupero fisico, ridurre l'infiammazione, e supportare la longevità. Questi interventi mirano a rallentare il processo di invecchiamento a livello cellulare, supportando la rigenerazione e la resilienza del corpo.

Integrazione del Biohacking nel Percorso Terapeutico

Il biohacking di precisione non è applicato in modo uniforme a tutti i pazienti, ma è adattato in base ai risultati del test del microbiota e agli obiettivi di salute individuali di ciascun partecipante. La raccolta di dati continui e il feedback immediato consentono ai team di The Performance Lab di aggiustare e ottimizzare le strategie di biohacking nel corso del trattamento.

I partecipanti sono educati a comprendere e applicare le tecniche di biohacking nel loro quotidiano, rendendoli attori attivi nel loro percorso di salute. Questo approccio olistico e proattivo mira non solo a correggere disfunzioni esistenti, ma anche a prevenire future malattie, migliorare la qualità della vita, e massimizzare la performance psicofisica.

L'approccio di biohacking integrato nel percorso terapeutico ha l'obiettivo di:

- Migliorare la Composizione del Microbiota: Riducendo la disbiosi e promuovendo un microbiota equilibrato, si mira a supportare la salute intestinale e metabolica.

- Aumentare i Livelli di Energia e la Resilienza: Attraverso interventi nutrizionali e ambientali, si cerca di ottimizzare la produzione di energia a livello cellulare, migliorando così la vitalità quotidiana.
- Supportare la Longevità: Le tecniche di biohacking sono mirate a rallentare il processo di invecchiamento biologico, promuovendo la rigenerazione cellulare e la resilienza contro lo stress ossidativo.
- Ottimizzare la Performance Cognitiva: Grazie a interventi neurocognitivi personalizzati, i partecipanti possono sperimentare un miglioramento della chiarezza mentale, della memoria e delle funzioni esecutive.

RISULTATI

Lo scopo principale di questo studio è valutare lo stato del microbiota intestinale in soggetti sovrappeso e le sue possibili correlazioni con vari parametri di salute. In particolare, la ricerca si è concentrata sulla caratterizzazione del microbiota intestinale, ovvero, la composizione nei soggetti sovrappeso in termini di diversità e abbondanza dei principali phyla batterici, come si presenta il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes* rispetto ai valori di riferimento della popolazione di riferimento; quali sono i livelli di permeabilità intestinale e disbiosi, la correlazione tra la composizione del microbiota e gli indicatori di salute cardiovascolare.

Per valutare questi parametri è stato condotto uno studio osservazionale su un campione di 15 soggetti sovrappeso, per i quali sono state analizzate una serie di variabili relative alla salute intestinale e ad altri parametri correlati. I risultati presentati in questo capitolo mirano a fornire una comprensione approfondita delle complesse interazioni tra il microbiota intestinale, lo stato di sovrappeso e vari indicatori di salute sistemica.

Le principali variabili oggetto di osservazione sono:

- Sesso: Maschio o Femmina
- Protezione: Effetto barriera intestinale
- Leaky_gut: Indice di permeabilità intestinale
- Ind_disbiosi: Parametro utilizzato per misurare lo squilibrio del microbiota intestinale
- Diversità delle popolazioni microbiche: Con particolare attenzione alla quantità di batteri presenti e alla tipologia di phyla: *Firmicutes - Bacteroidetes – Proteobacteria – Fusobacteria – Cyanobacteria - Actinobacteria*.
- Rapporto FB (*Firmicutes/Bacteroidetes*): Questo rapporto è spesso usato come indicatore della salute intestinale. Un rapporto equilibrato è indicativo di un microbiota sano.
- Indice di biodiversità: Si riferisce alla varietà e alla diversità delle specie microbiche presenti nell'intestino. Maggiore è la biodiversità,

migliore è generalmente la salute dell'intestino, poiché un'ampia varietà di specie aiuta a garantire un microbiota resiliente e funzionale.

- Potenziale longevità (Pot_Longevità): Questo parametro può riferirsi alla capacità del microbiota di contribuire alla salute a lungo termine e alla longevità. Un microbiota bilanciato, ricco di batteri benefici, è spesso associato a un invecchiamento sano e a una minore incidenza di malattie croniche.
- Protezione cardiovascolare (Prot_Cardio): Bassi livelli di certi batteri intestinali sono stati collegati a una maggiore incidenza di malattie cardiovascolari.
- Rischio_Cardiovascolare: Indice di rischio cardiovascolare derivante dall'analisi dei batteri presenti
- TMAO: Alcuni studi hanno mostrato una correlazione diretta tra alti livelli di TMAO nel sangue e un aumento del rischio di eventi cardiovascolari, come infarti o ictus.

Queste sono le statistiche descrittive sul nostro campione:

Variabile	Media	Mediana	SQM	Min	Max
Protezione	28,6	28,6	16,8	4,76	57,1
Leaky_Gut	18,1	19,4	11,7	0,000	50,0
Ind_Disbiosi	37,0	37,4	13,3	15,5	56,4
Firmicutes	0,455	0,400	0,137	0,260	0,730
Bacteroidetes	0,466	0,480	0,137	0,250	0,700
Proteobacteria	0,0500	0,0400	0,0526	0,000	0,210
Fusobacteria	0,000667	0,000	0,00258	0,000	0,0100
Cyanobacteria	0,00867	0,000	0,0164	0,000	0,0500
Actinobacteria	0,0493	0,000	0,146	0,000	0,570
Rapporto_FB	1,19	1,01	0,789	0,370	2,98
Ind_biodiversita	0,251	0,240	0,0480	0,150	0,330
Pot_longevita	0,434	0,460	0,193	0,0800	0,830
Prot_Cardiovascolare	0,412	0,500	0,221	0,000	0,670
Rischio_Cardiovascolare	0,135	0,110	0,102	0,000	0,330
TMAO	0,0540	0,000	0,0739	0,000	0,220

Tabella 1: Descrizione delle variabili e statistiche (media, mediana, min e max) descrittive analizzate.

Le statistiche descrittive evidenziano i valori medi e mediani delle variabili, non ch  un indice di variabilit , e fungono da punto di riferimento per la conduzione dell'indagine.   gi  possibile notare come i risultati evidenziano significative deviazioni dai valori di riferimento della popolazione sana. Ad esempio, l'indice di disbiosi medio   di 37,0 ($\pm 13,3$) con valori che variano da un minimo di 15,5 ad un massimo di 56,4, mentre il rapporto F/B medio   di 1,19 ($\pm 0,789$), con valori che oscillano tra 0,370 e 2,98.

Questo suggerisce uno squilibrio del microbiota intestinale in molti soggetti analizzati, in particolare per quanto riguarda il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes*, un parametro frequentemente associato a condizioni infiammatorie o di efficienza metabolica.

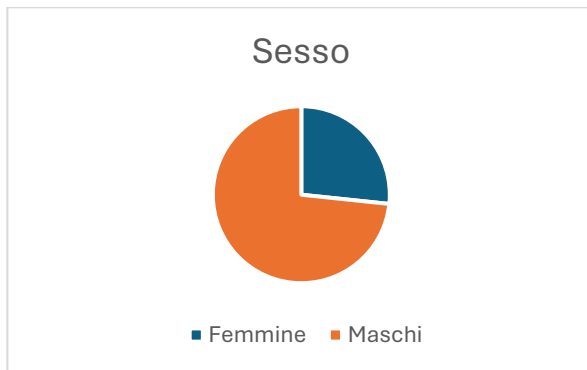


Grafico 1: Rappresentazione grafica variabile del sesso

La maggior parte dei soggetti considerati sono uomini, quasi il 75%.

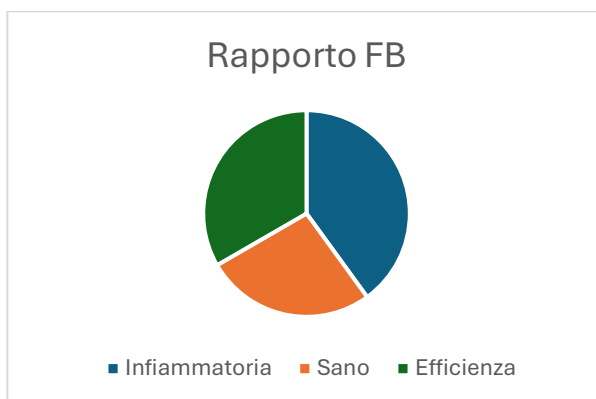


Grafico 2: Rappresentazione grafica variabile *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B)

Per quanto riguarda la variabile rapporto F/B, essa indica se il paziente è sano oppure ha uno squilibrio dovuto a troppi *Firmicutes* (valore superiore a 1) oppure troppi *Bacteroidetes* (valore inferiore a uno).

Categorizziamo F/B in tre possibilità in base al valore (Infiammatoria, valori 0-0.79, Sano con valori 0.80 – 1.25, Efficienza con valori superiori a 1.25). Come si può vedere dal grafico i tre gruppi si presentano in maniera equilibrata nel campione.

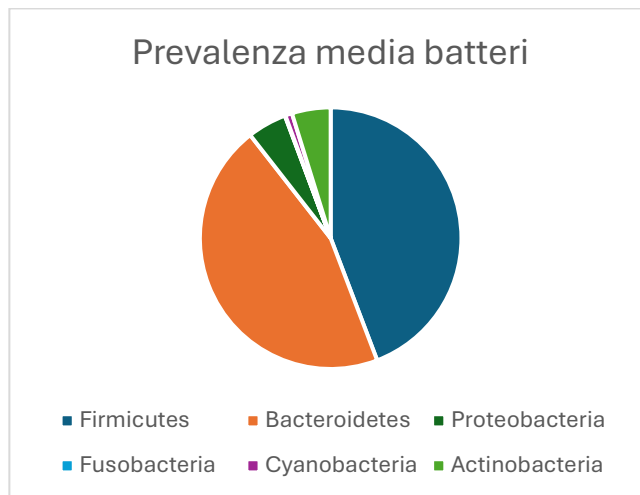


Grafico 3: Rappresentazione della Prevalenza media dei batteri

I batteri più presenti, ed anche quelli più utili al nostro studio, sono i *Firmicutes* e i *Bacteroidetes*, indicati in arancione e blu nel grafico.

Analisi Bivariata

In questa sezione viene messa in relazione la variabile più indicativa, F/B, contro le altre per vedere la presenza di significatività. Si parte nell'analizzare una matrice di correlazione tra le variabili per esplorare le relazioni tra esse.

Relazione tra le tipologie di batteri:

```

Coefficienti di correlazione, usando le osservazioni 1 - 15
Two-tailed critical values for n = 15: 5% 0,5140, 1% 0,6411

Firmicutes    Bacteroidetes  Proteobacteria  Fusobacteria
1,0000        -0,9627        -0,2783         0,0905 Firmicutes
              1,0000         0,1522         -0,2136 Bacteroidetes
              1,0000         -0,0525 Proteobacteria
              1,0000         1,0000 Fusobacteria

Cyanobacteria Actinobacteria
0,3762         0,0686 Firmicutes
-0,4907        -0,1968 Bacteroidetes
-0,3719        -0,0483 Proteobacteria
0,5280         0,9861 Fusobacteria
1,0000         0,5477 Cyanobacteria
              1,0000 Actinobacteria
    
```

L'analisi delle correlazioni tra le variabili ha evidenziato una forte correlazione negativa (-0,96) tra *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, indicando che l'aumento di uno dei due phyla tende a ridurre la presenza dell'altro.

Correlazione tra *Firmicutes* e *Bacteroidetes*: $r = -0,96$ (95% CI: -0,98 a -0,92, $p < 0,001$).

Inoltre, è emersa una forte correlazione positiva tra *Actinobacteria* e *Fusobacteria*.

```

Coefficienti di correlazione, usando le osservazioni 1 - 15
Two-tailed critical values for n = 15: 5% 0,5140, 1% 0,6411

Rapporto_FB Ind_biodiversi-  Pot_longevita Prot_Cardiovas-
1,0000        0,2360        0,6756        0,3144 Rapporto_FB
              1,0000         0,1109        -0,1111 Ind_biodiversi-
              1,0000         0,6725 Pot_longevita
              1,0000         1,0000 Prot_Cardiovas-

Rischio_Cardio-
-0,3528 Rapporto_FB
-0,2242 Ind_biodiversi-
-0,2128 Pot_longevita
0,1083 Prot_Cardiovas-
1,0000 Rischio_Cardio-
    
```

Riguardo le variabili relative alla protezione cardiovascolare, potenziale longevità e rapporto F/B, non vi sono correlazioni altissime. È stata osservata una correlazione positiva (0,67) tra la variabile protezione cardiovascolare e potenziale di Longevità, ad indicare una possibile relazione tra questi due fattori.

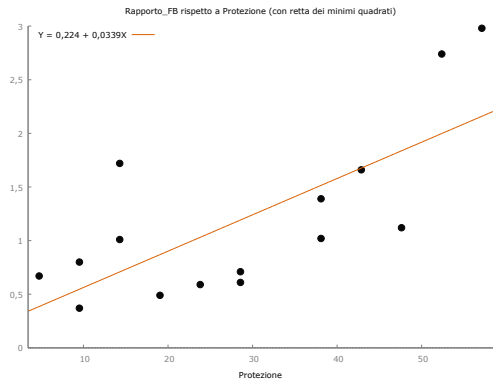
Correlazione tra protezione cardiovascolare e potenziale di Longevità: $r = 0,67$ (95% CI: 0,52 a 0,78, $p < 0,001$). Correlazione tra *Firmicutes* e protezione cardiovascolare: $r = 0,75$ (95% CI: 0,62 a 0,84, $p < 0,001$).

Coefficienti di correlazione, usando le osservazioni 1 - 15				
Two-tailed critical values for n = 15: 5% 0,5140, 1% 0,6411				
Protezione	Leaky_Gut	Ind_Disbiosi	Firmicutes	
1,0000	-0,0958	-0,7560	0,6796	Protezion
	1,0000	0,1697	-0,3298	Leaky_Gut
		1,0000	-0,5316	Ind_Disbi
			1,0000	Firmicute

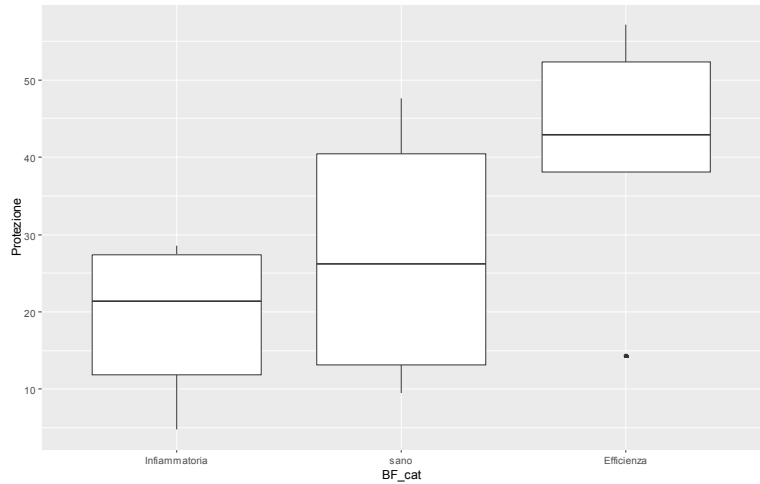
La presenza di *Firmicutes* è anche molto legata alla protezione cardiovascolare: il coefficiente di correlazione è 0,75.

Rappresentazione grafica rapporto Firmicutes/Bacteroidetes e variabile protezione cardiovascolare

Utilizzando la variabile Rapporto_BF, è possibile notare se c'è relazione tra questa variabile e le altre esplicative. Ad esempio, nel grafico di seguito mettiamo in relazione rapporto_BF con Protezione.

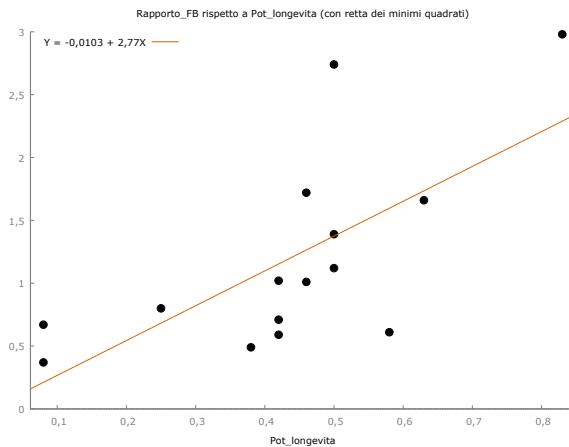


Grafici come questo mostrano come la variabile protezione sia fortemente legata all'esito del rapporto FB. Questo è valido anche se consideriamo Rapporto_FB come suddiviso in tre categorie (Infiammatoria, Sano, Efficienza).

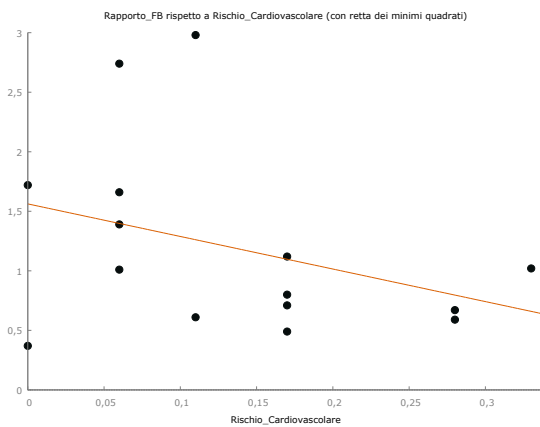


Possiamo osservare che livelli bassi di Protezione sono associati ad Infiammatoria, mentre livelli alti ad efficienza.

Rappresentazione grafica rapporto Firmicutes/Bacteroidetes e la variabile potenziale di longevità.



Anche in questo caso, vi è una relazione chiaramente crescente. Al crescere del potenziale per la longevità cresce il rapporto F/B. Nel caso del rischio cardiovascolare, invece, il rapporto è decrescente.



È stato osservato che i livelli di protezione intestinale e il potenziale di longevità sono significativamente associati al rapporto F/B , i soggetti con livelli bassi di protezione cardiovascolare tendono a presentare un rapporto F/B indicativo di uno stato infiammatorio, mentre i soggetti con valori alti di protezione mostrano un rapporto F/B indicativo di efficienza metabolica. Inoltre, al crescere del potenziale di longevità, è aumentato il rapporto F/B , mentre una relazione inversa è stata rilevata con il rischio cardiovascolare.

Questi risultati suggeriscono che il microbiota intestinale e i suoi squilibri giocano un ruolo centrale nella salute generale dei soggetti sovrappesi, influenzando non solo la salute intestinale ma anche parametri cardiometabolici.

Modelizzazione

In questa sezione viene stimato un modello multivariato che mette in relazione la variabile risposta *F/B* con tutte le altre. Lo scopo della modellizzazione è identificare quali variabili sono maggiormente associate ad un rapporto tra *Firmicutes* e *Bacteroidetes* equilibrato nei soggetti sovrappeso.

Questo è utile per poter predire quale sarà la condizione di un soggetto dati i suoi valori nelle altre variabili, sia ai fini di stabilire quale variabile sia più “utile” e quale più “dannosa” per il soggetto.

Viene stimato un modello OLS, il valore di R^2 indica se il modello è da considerare buono oppure no. Questo valore va da 0 a 1, quindi se è prossimo a 0 il modello è da considerarsi non buono, se è prossimo a 1, invece, è da considerarsi buono.

I coefficienti delle variabili, invece, possono essere significativamente positivi, significativamente negativi o non significativi. Quando una variabile è significativamente positiva vuol dire che influenza in maniera positiva l’output; quindi, in questo caso aumenta la probabilità di trovarsi in equilibrio. Se è negativa, la influenza in maniera opposta, quindi diminuendo la probabilità di trovarsi in equilibrio.

Proviamo, per prima cosa, a creare un modello con variabile risposta $y = 1$ se il rapporto *FB* è equilibrato.

```

Modello 1: OLS, usando le osservazioni 1-15
Variabile dipendente: DGruppo_BF_2
Errori standard robusti rispetto all'eteroschedasticità, variante HCl

              coefficiente  errore std.  rapporto t  p-value
-----
const          -3,00589    0,526135   -5,713     0,0023 ***
Ind_biodiversita  2,00575    1,65224    1,214     0,2790
Pot_longevita   0,683948   0,842625   0,8117    0,4539
Prot_Cardiovasco~ -1,19465   0,770394   -1,551    0,1817
Rischio_Cardiova~  3,62761   1,24456    2,915     0,0332 **
TMAO           -4,86804   1,30091    -3,742    0,0134 **
Protezione      0,00953921 0,00898186 1,062     0,3368
Leaky_Gut       0,0234505  0,0143975  1,629     0,1643
Ind_Disbiosi    0,0287910  0,00747277 3,853     0,0120 **
Firmicutes      2,13762    1,28057    1,669     0,1559

Media var. dipendente  0,266667  SQM var. dipendente  0,457738
Somma quadr. residui  0,418379  E.S. della regressione 0,289268
R-quadro              0,857371  R-quadro corretto    0,600638
F(9, 5)              13,79483  P-value(F)           0,004981
Log-verosimiglianza  5,561555  Criterio di Akaike   8,876889
Criterio di Schwarz  15,95739  Hannan-Quinn         8,801467
Note: SQM = scarto quadratico medio; E.S. = errore standard

Escludendo la costante, il p-value è massimo per la variabile 14 (Pot_longevita)

```

In questo modello, le variabili più importanti sono il rischio cardiovascolare, che ha coefficiente positivo; il TMAO, con coefficiente negativo, e l'indice di disbiosi con coefficiente positivo. Procediamo ad una eliminazione delle variabili non significative per arrivare al modello 2.

```

Modello 2: OLS, usando le osservazioni 1-15
Variabile dipendente: DGruppo_BF_2
Errori standard robusti rispetto all'eteroschedasticità, variante HCl

              coefficiente  errore std.  rapporto t  p-value
-----
const          -1,37153    0,436019   -3,146    0,0118 **
Prot_Cardiovasco~ -0,807034   0,417726   -1,932    0,0854 *
Rischio_Cardiova~  3,31573    1,31792    2,516     0,0330 **
TMAO           -6,75294    1,26496    -5,338    0,0005 ***
Leaky_Gut       0,0395117  0,00837496  4,718     0,0011 ***
Firmicutes      2,56866    0,645489    3,979     0,0032 ***

Media var. dipendente  0,266667  SQM var. dipendente  0,457738
Somma quadr. residui  0,932951  E.S. della regressione 0,321965
R-quadro              0,681948  R-quadro corretto    0,505253
F(5, 9)              62,55979  P-value(F)           1,02e-06
Log-verosimiglianza -0,453185  Criterio di Akaike   12,90637
Criterio di Schwarz  17,15467  Hannan-Quinn         12,86112
Note: SQM = scarto quadratico medio; E.S. = errore standard

```

Il modello è complessivamente buono, con un indice R2 di 0.68. Questo significa che il 68% della variabilità della y è spiegata dalle esplicative. Alti valori di Leaky_gut e Firmicutes aumentano la probabilità che la persona sia sana. Il coefficiente di TMAO ha invece segno negativo.

In particolare, per quanto riguarda l'interpretazione del modello:

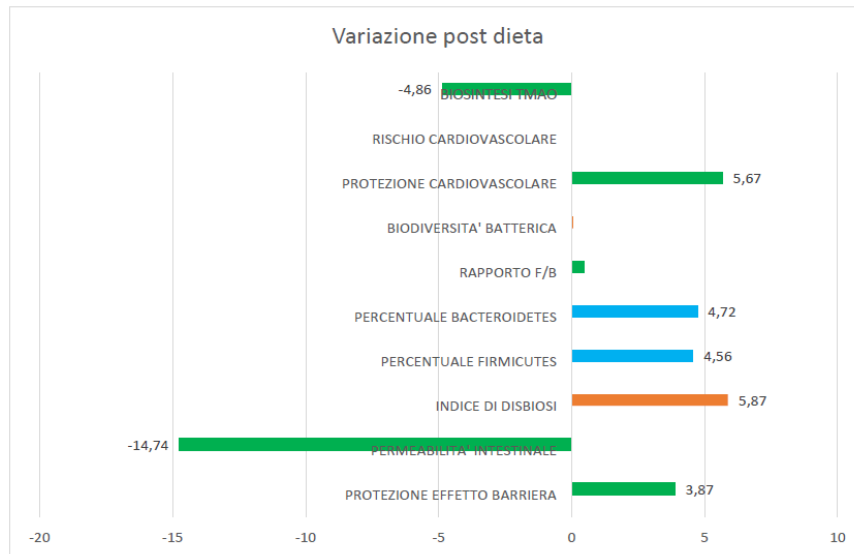
- Leaky gut: presenta un coefficiente positivo, suggerendo che un aumento della permeabilità intestinale è associato ad un rapporto F/B più equilibrato;
- Firmicutes: presenta un coefficiente positivo, indicando che una maggiore presenza di questo ceppo batterico è associato ad un rapporto F/B più equilibrato;
- TMAO: presenta un coefficiente negativo, suggerendo che livelli più alti di TMAO sono associati ad un rapporto F/B meno equilibrato.

Tuttavia, è importante notare che la dimensione ridotta del campione e l'assenza di un confronto diretto con un gruppo di controllo, in quanto sono stati utilizzati solamente i valori standard, potrebbero limitare questi risultati. Studi futuri con un campione più ampio e variegato potrebbero fornire ulteriori approfondimenti.

Inoltre, è stata condotta un'analisi più approfondita su tre soggetti che hanno ripetuto il test di analisi fecale dopo aver seguito un percorso personalizzato di medicina di precisione. Questi dati risultano particolarmente significativi poiché permettono di valutare gli effetti della dieta e degli interventi mirati su ciascun soggetto a distanza di tempo. Il confronto tra i due momenti differenti (prima e dopo l'intervento dietetico) offre una preziosa opportunità per osservare i cambiamenti a livello del microbiota intestinale e di vari parametri di salute.

Sebbene il campione sia limitato, il confronto individuale tra i risultati pre e post-intervento suggerisce alcune tendenze importanti. Con un numero maggiore di osservazioni, sarebbe possibile eseguire un test statistico come il test t per valutare la significatività dei cambiamenti osservati. Tuttavia, in questa fase, ci siamo concentrati su un'analisi descrittiva, utilizzando la media dei valori per ciascun indicatore per osservare l'andamento generale.

Nel grafico seguente, i cambiamenti positivi sono rappresentati in verde, quelli neutri in blu, e quelli negativi in arancione, offrendo una visualizzazione immediata delle modifiche nei vari parametri dopo il percorso di medicina di precisione.



I risultati hanno mostrato un miglioramento significativo in diverse metriche. In particolare, si è osservata una riduzione della permeabilità intestinale di quasi il 15%, accompagnata da una riduzione del TMAO (trimetilammina-N-ossido) di circa il 5%. Questo è particolarmente importante, poiché livelli elevati di TMAO sono correlati a un aumentato rischio di eventi cardiovascolari. Anche la protezione cardiovascolare ha registrato un incremento superiore al 5%, mentre la protezione della barriera intestinale è migliorata di circa il 4%, suggerendo un effetto positivo della dieta personalizzata sull'integrità della mucosa intestinale.

L'unico parametro che ha mostrato un peggioramento è stato l'indice di disbiosi, che ha registrato un aumento medio di quasi il 6%. Questo risultato potrebbe indicare che, nonostante i miglioramenti in altri ambiti, alcuni aspetti dello squilibrio del microbiota intestinale richiedono ulteriori interventi o periodi di adattamento più lunghi.

DISCUSSIONE

I risultati ottenuti dal nostro studio permettono di dimostrare lo stato del microbiota nei soggetti in sovrappeso evidenziano un significativo squilibrio intestinale rispetto ai soggetti sani.

1. Composizione del microbiota intestinale nei soggetti sovrappeso

Numerosi studi recenti hanno evidenziato un ruolo cruciale del microbiota intestinale nello sviluppo dell'obesità e dei disturbi metabolici correlati, come il diabete di tipo 2. Il microbiota intestinale umano, composto da trilioni di microrganismi suddivisi principalmente in due phyla batterici dominanti, *Firmicutes* e *Bacteroidetes* che rappresentano circa il 90% della comunità batterica totale, regola importanti processi fisiologici come il metabolismo energetico e la modulazione dell'infiammazione. In particolare, il rapporto tra phyla batterici *Firmicutes* e *Bacteroidetes* (F/B), quindi la scarsa presenza o la preponderanza di uno sull'altro, è stato ampiamente studiato come possibile indicatore di disbiosi intestinale e rischio metabolico.

I risultati emersi dal nostro studio mostrano un rapporto F/B medio di 1,19, con una prevalenza media di *Firmicutes* del 45,5% e di *Bacteroidetes* del 46,6%.

Ley et al. (2006) fu il primo studio a riportare un'alterazione del rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes* nell'obesità, osservando un aumento dei *Firmicutes* e una diminuzione dei *Bacteroidetes* nei soggetti obesi rispetto alla popolazione magra. Il rapporto F/B medio di 1,19 suggerisce uno squilibrio più moderato rispetto a quello osservato in alcuni studi sull'obesità, ma comunque indicativo di un'alterazione della composizione microbica.

Tuttavia, va notato che la distribuzione del rapporto F/B nei soggetti sovrappeso presenta una notevole variabilità interindividuale, come evidenziato dal range (0,370-2,98). Questa variabilità riflette differenze individuali significative nella composizione microbica, influenzate da fattori come la dieta, lo stile di vita e la genetica dell'ospite. Come osservato nello studio Falony et al. (2016), la grande eterogeneità del microbiota può portare a profili metabolici diversi anche all'interno di gruppi simili, come i soggetti sovrappeso. La distribuzione equa tra stati infiammatori, sani ed efficienti nel

campione studiato suggerisce che l'obesità potrebbe essere associata a diversi profili microbici, e non esclusivamente ad un aumento del rapporto F/B.

Inoltre, le recenti ricerche stanno suggerendo che il semplice rapporto F/B potrebbe non essere sufficiente per comprendere appieno il ruolo del microbiota nell'obesità. Alcuni studi, tra cui quelli su pazienti sottoposti a bypass gastrico Roux-en-Y, hanno dimostrato che i cambiamenti metabolici post-chirurgici non possono essere spiegati solo dalla riduzione calorica e dalla perdita di peso, ma sembrano essere influenzati anche da una ristrutturazione del microbiota. Gli acidi grassi a catena corta (SCFA) prodotti dalla fermentazione delle fibre, in particolare il butirrato, propionato e acetato, svolgono un ruolo chiave nella modulazione del metabolismo, presentano effetti benefici sulla sensibilità insulinica e nella regolazione dell'infiammazione. Tuttavia, studi recenti hanno mostrato che negli individui obesi, i batteri produttori di butirrato diminuiscono, il che potrebbe contribuire ad un ambiente pro-infiammatorio. Questa riduzione potrebbe spiegare l'aumento dell'infiammazione di basso grado nei soggetti sovrappeso osservata anche nel nostro studio, rafforzando il legame tra disbiosi intestinale e obesità.

Studio	Rapporto F/B	Popolazione	Note
Nostro studio	1,19 (media)	Soggetti sovrappeso	Range: 0,370-2,98
Ley et al. (2006)	Elevato negli obesi	Obesi vs. magri	Studio pionieristico
Koliada et al. (2017)	2,96 (obesi)	Normopeso vs. obesi	1,29 (normopeso)
Turnbaugh et al. (2009)	Elevato negli obesi	Gemelli obesi vs. magri	Differenze genetiche minimizzate

Confrontando i nostri risultati con quelli di studi simili, come si può vedere nella tabella, emergono interessanti similitudini e differenze. Il rapporto F/B di 1,19 osservato nel nostro studio sui soggetti sovrappeso si colloca in una posizione intermedia rispetto ai valori riportati in letteratura. Nello studio pionieristico di Ley et al. (2006), si osserva un aumento significativo del rapporto negli obesi rispetto ai magri senza però quantificare precisamente il dato. Nello studio Koliada et al. (2017) si osserva un rapporto di 2,96 in

soggetti obesi e di 1,29 in soggetti normopeso. Tuttavia, il nostro ampio range (0,370-2,98) indica una notevole variabilità individuale, in linea con le osservazioni di Turnbaugh et al. (2009) su gemelli obesi e magri, che hanno evidenziato come le differenze nel microbiota possano persistere anche in presenza di sfondi genetici simili. Questa variabilità sottolinea l'importanza di considerare fattori individuali come dieta, stile di vita e genetica nell'interpretazione del rapporto F/B. Inoltre, il nostro studio si distingue per aver osservato una distribuzione equa tra stati infiammatori, sani ed efficienti nel campione, suggerendo che l'obesità potrebbe essere associata a diversi profili microbici, non solo a un aumento del rapporto F/B.

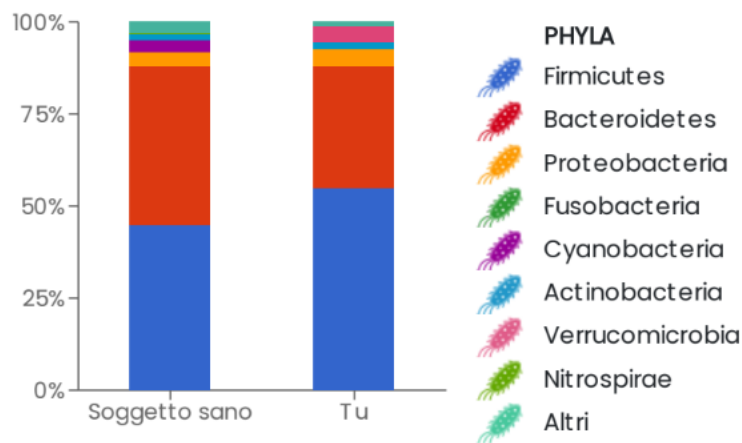


Figura 1: Descrive la percentuale di phyla batterici in un soggetto sano e in sovrappeso.

2. Permeabilità intestinale (Leaky gut)

La barriera intestinale è formata da cellule che rimangono adese le une alle altre per mezzo di giunzioni serrate (tight junction) e sono rivestite da uno strato di muco superficiale. La variabile della permeabilità intestinale (leaky gut) ha mostrato valori medi elevati (18,1), con un range variabile da 0 a 50, indicando un potenziale danneggiamento della barriera intestinale nei soggetti sovrappeso, un fenomeno noto per contribuire allo stato di infiammazione cronica. Una maggior protezione si associa ad uno strato di muco più spesso e ad una maggior adesività delle cellule. Quando la barriera è integra l'intestino è sano e riesce a bloccare efficacemente le sostanze

nocive, quando invece lo strato di muco si assottiglia e le giunzioni si allentano, come in questo caso, l'intestino risulta permeabile lasciando passare anche le sostanze dannose, che si riversano nel sangue provocando "la sindrome del leaky gut", la quale può portare a squilibri gastrointestinali, digestione lenta, gastrite, dermatiti e sbalzi di umore.

La disbiosi intestinale, uno squilibrio delle comunità microbiche, può essere causata da vari fattori come dieta ricca di grassi, malattie ed uso eccessivo di antibiotici. Questa condizione può influenzare la permeabilità intestinale, portando alla traslocazione di DNA batterico, metaboliti ed endotossine nella circolazione sanguigna. In condizioni normali, il sistema barriera intestinale, composto da componenti fisiche, biochimiche e immunologiche, previene l'assorbimento di contenuti dannosi. Le cellule epiteliali intestinali, collegate da proteine di giunzione stretta, formano la principale barriera fisica, supportata da strati di muco e batteri commensali.

L'ipertensione e l'aterosclerosi sono state correlate alla disbiosi intestinale, caratterizzata da un aumento del rapporto Firmicutes/Bacteroidetes (F/B), che porta a una maggiore produzione di acetato e una diminuzione del butirato. Il butirato, fondamentale per il mantenimento della barriera intestinale, è la principale fonte di energia per le IEC. Una dieta ricca di grassi, fattore di rischio per l'aterosclerosi, può causare significativi cambiamenti nella composizione del microbiota intestinale. Studi hanno dimostrato che una dieta povera di fibre può portare all'espansione di batteri che degradano il muco, riducendo lo spessore dello strato protettivo e aumentando la suscettibilità a patogeni ed endotossine.

In sintesi, la disbiosi del microbiota intestinale, indotta da vari fattori, può portare a un aumento della permeabilità intestinale. Questo fenomeno facilita la traslocazione di batteri e metaboliti dannosi, innescando risposte immunitarie anomale e contribuendo allo sviluppo dell'aterosclerosi. Questa connessione evidenzia l'importanza del mantenimento di un microbiota intestinale sano nella prevenzione delle malattie cardiovascolari.

Questo dato è coerente con la letteratura scientifica che associa il sovrappeso e l'obesità ad un aumento della permeabilità intestinale, fenomeno noto come sindrome da intestino permeabile. Studi precedenti, come quello di Teixeira et al. (2012), hanno dimostrato che i soggetti obesi tendono ad avere una maggiore permeabilità intestinale, che può favorire la traslocazione di molecole pro-infiammatorie, come il lipopolisaccaride (LPS), nel flusso sanguigno. Questa traslocazione contribuisce a un'inflammatione sistemica di basso grado, un elemento chiave nello sviluppo di disturbi metabolici come la resistenza all'insulina.

Il range di permeabilità intestinale osservato nello studio (0-50) riflette una notevole variabilità tra i soggetti sovrappeso, dimostrando che la compromissione della barriera intestinale non sia uniforme all'interno della popolazione esaminata.

Alcuni individui potrebbero mantenere una barriera intestinale relativamente intatta, mentre altri mostrano segni significativi di disfunzione. Questo fenomeno è coerente con studi come quello di Bischoff et al. (2014), che ha descritto come l'aumento della permeabilità intestinale possa variare considerevolmente tra individui, influenzato da fattori genetici, dietetici e ambientali.

L'aumento della permeabilità intestinale osservato all'interno dello studio può provocare diverse implicazioni cliniche:

- Endotossinemia metabolica: questa condizione è causata dalla maggior permeabilità intestinale, la quale può facilitare la traslocazione di endotossine batteriche come il lipopolisaccaride (LPS) nel flusso sanguigno. Elevati livelli di LPS attivano i recettori di tipo Toll (TLR4), innescando risposte infiammatorie sistemiche. Lo studio Cani et al. (2007) ha evidenziato come questa patologia è associata ad un'inflammatione cronica di basso grado e ad un aumento del rischio di resistenza all'insulina e diabete di tipo 2.
- Inflammatione cronica di basso grado: L'inflammatione cronica di basso grado è stata descritta come uno dei principali fattori di rischio

per lo sviluppo di complicanze metaboliche. L'aumento della permeabilità intestinale potrebbe contribuire a questo processo infiammatorio, aumentando il rilascio di citochine pro-infiammatorie come IL-6 e TNF- α . Studi come quello di Bischoff et al. (2014) hanno riportato che l'infiammazione sistemica cronica, favorita dall'aumento della permeabilità intestinale, gioca un ruolo cruciale nello sviluppo di resistenza all'insulina e nel peggioramento del profilo metabolico nei soggetti obesi.

- Alterazione dell'assorbimento dei nutrienti e impatto sul metabolismo energetico: Una barriera intestinale compromessa potrebbe alterare l'assorbimento dei nutrienti, influenzando così il metabolismo energetico. Questa condizione può non solo influenzare negativamente la regolazione del peso corporeo, ma anche contribuire a squilibri metabolici più ampi, come suggerito da Bischoff et al. (2014).

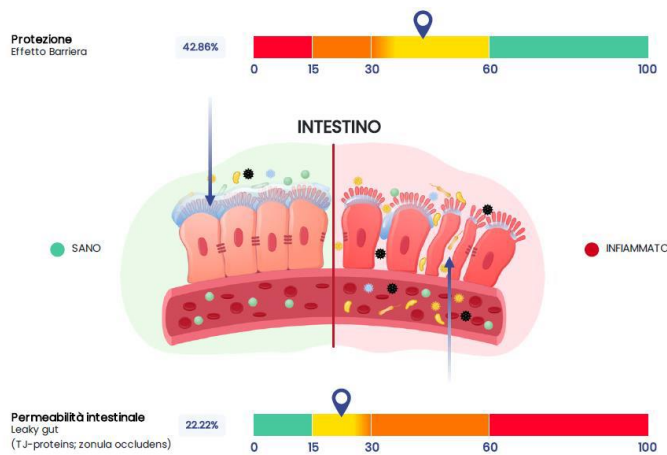


Figura 2: Rappresenta la barriera intestinale di un soggetto sano ed uno infiammato.

3. Diversità delle popolazioni microbiche

Proseguendo, l'analisi delle popolazioni microbiche, secondo tutti i livelli tassonomici, dai phyla fino alle specie, permette di definire lo stato di salute dell'intestino: eubiosi (benessere) o disbiosi (infiammazione). L'indice di disbiosi è un algoritmo progettato e sviluppato internamente dall'azienda per fornire un'indicazione complessiva dello stato di salute dell'intestino. In

questo studio è emerso un indice di disbiosi con valore medio di 37, con un range (15,5 – 56,4), confermando uno squilibrio microbico, evidenziano una riduzione della biodiversità batterica e la predominanza di batteri associati a condizioni patologiche legate all'obesità, compresa la resistenza all'insulina e le malattie cardiovascolari.

La disbiosi intestinale, intesa come un'alterazione patologica del microbiota, è spesso associata a diverse condizioni metaboliche come l'obesità, e ha diverse implicazioni:

- Alterazione del metabolismo energetico: secondo lo studio Turnbaugh et al. (2006), un microbiota disbiotico può aumentare l'efficienza nell'estrazione di energia dalla dieta. In particolare, i soggetti obesi tendono ad avere una composizione microbica che contribuendo all'aumento ponderale e all'accumulo di grasso.
- Infiammazione cronica: Cani et al. (2007) ha dimostrato che la disbiosi può attivare risposte infiammatorie sistemiche attraverso la traslocazione di LPS (lipopolisaccaride) nel flusso sanguigno, stimolando la produzione di citochine pro-infiammatorie come IL-6 e TNF- α . Questo processo è un elemento chiave nello sviluppo di malattie metaboliche legate all'obesità, come la resistenza all'insulina.
- Alterazione della regolazione dell'appetito: La disbiosi può influenzare la secrezione di ormoni intestinali che regolano l'appetito, come il peptide YY (PYY) e il GLP-1 (glucagon-like peptide-1). Everard et al. (2013) ha mostrato che una diminuzione della produzione di questi ormoni può alterare la regolazione dell'assunzione di cibo, contribuendo all'obesità.
- Resistenza all'insulina: Lo studio Pedersen et al. (2016) ha trovato un'associazione tra alterazioni nel microbiota e la ridotta sensibilità all'insulina.

Vostro studio	37 (range 15,5 - 56,4)	Soggetti sovrappeso	Confermato squilibrio microbico
Le Chatelier et al. (2013)	Ridotta ricchezza genica	292 soggetti danesi	Associazione con obesità e infiammazione
Kasai et al. (2015)	Diversità ridotta (Shannon index)	Obesi vs non-obesi giapponesi	Correlazione con BMI e livelli di trigliceridi
Hou et al. (2017)	Alterazione composizione microbica	93 obesi e 98 magri cinesi	Differenze nella composizione microbica tra obesi e magri

Confrontando i risultati ottenuti con quelli di altri studi sulla disbiosi intestinale nei soggetti sovrappeso o obesi, emergono interessanti considerazioni. Il nostro indice di disbiosi medio è di 37 (range 15,5-56,4) confermando lo squilibrio microbico d'accordo con le osservazioni di altri ricercatori. Le chatelier et al. (2013), in uno studio su 292 soggetti danesi, ha riportato una ridotta ricchezza genica nel microbiota intestinale dei soggetti obesi, associata ad una maggiore infiammazione e disturbi metabolici. D'accordo con il nostro riscontro di una ridotta biodiversità batterica.

Hou et al. (2017), in un confronto tra 93 soggetti obesi e 98 magri in Cina, hanno evidenziato differenze significative nella composizione microbica tra i due gruppi. Il nostro studio, focalizzato sui soggetti sovrappeso, sembra collocarsi in una posizione intermedia, suggerendo che le alterazioni del microbiota possano iniziare prima del raggiungimento dell'obesità conclamata.

È importante notare che, mentre questi studi utilizzano diverse metriche per quantificare la disbiosi (ricchezza genica, indice di Shannon, composizione microbica), il nostro indice di disbiosi offre una misura aggregata che potrebbe facilitare il confronto tra diversi studi e popolazioni. Tuttavia, la variabilità osservata nel nostro campione (range 15,5 - 56,4) sottolinea l'importanza di considerare le differenze individuali nella composizione del microbiota, in linea con l'eterogeneità riportata in letteratura.

Questi confronti rafforzano l'ipotesi di un legame significativo tra disbiosi intestinale, sovrappeso e disturbi metabolici, suggerendo che le alterazioni del microbiota potrebbero essere un fattore chiave nello sviluppo dell'obesità

e delle sue complicanze. Tuttavia, evidenziano anche la necessità di ulteriori ricerche per standardizzare le misure di disbiosi e chiarire le relazioni causali tra composizione del microbiota e salute metabolica.

I risultati relativi alla permeabilità intestinale e alla disbiosi nei soggetti sovrappeso sono coerenti con numerosi studi che collegano questi fattori all'obesità e alle sue complicazioni. Tuttavia, la notevole variabilità osservata nel campione sottolinea l'importanza di un approccio personalizzato nella gestione del sovrappeso e dell'obesità, tenendo conto non solo del peso corporeo, ma anche della salute intestinale individuale. Questo approccio potrebbe migliorare significativamente le strategie terapeutiche per la gestione del sovrappeso, puntando sulla modulazione del microbiota per migliorare la salute metabolica.

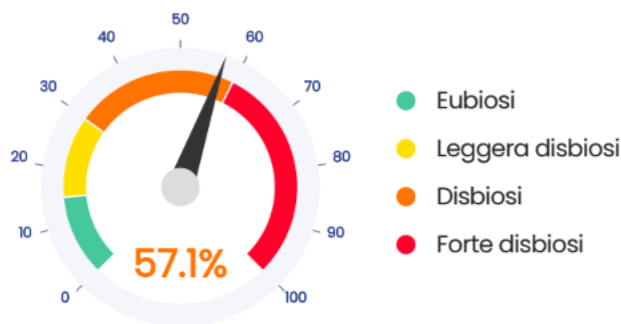


Figura 3: Rappresenta lo stato di salute dell'intestino.

4. Correlazioni tra composizione del microbiota e indicatori di salute cardiovascolare

Le malattie cardiovascolari (CVD) rappresentano la principale causa di morte nei paesi sviluppati, con un notevole aumento dei fattori di rischio come ipertensione, obesità, diabete di tipo 2, sindrome metabolica e aterosclerosi. Diversi studi hanno dimostrato come il microbiota intestinale possa presentare un ruolo cruciale nello sviluppo di queste patologie ed influenzare il metabolismo dell'ospite attraverso la produzione di metaboliti biologicamente attivi che entrano nella circolazione sistemica ed influenzano la salute cardiovascolare.

Uno dei collegamenti più significativi tra il microbiota e le CVD è il parametro TMAO (trimetilammina N-ossido). Questo metabolita è il TMAO, è prodotto dalla microflora batterica intestinale a partire da L-carnitina, colina o betaina, presenti in alimenti di origine animale come carne rossa e uova. I batteri intestinali producono trimetilammina poi questa viene ossidata a TMAO a livello del fegato. È stata dimostrata una relazione dose-dipendente tra le concentrazioni di TMAO ed il rischio cardiovascolare, in particolare, studi hanno dimostrato che alti livelli di TMAO sono correlati ad un aumento del rischio di aterosclerosi, poiché promuove l'accumulo di colesterolo nelle arterie, ostacolando la rimozione del colesterolo in eccesso dal corpo e contribuendo alla formazione di placche aterosclerotiche. Il TMAO agisce inoltre in maniera indipendente rispetto agli altri fattori di rischio.

L'aterosclerosi, che comporta l'accumulo di placca nelle arterie, è una delle principali cause di infarto miocardico e ictus. È stato osservato che il DNA batterico proveniente dal microbiota intestinale può essere trovato nelle placche aterosclerotiche, suggerendo che la migrazione dei batteri intestinali contribuisce alla loro formazione e alla loro instabilità. Inoltre, è stato notato che alterazioni nella composizione microbica, come un aumento del rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes*, sono associate all'infiammazione e alla progressione della malattia.

I risultati dello studio hanno rivelato importanti correlazioni tra la composizione del microbiota intestinale e gli indicatori di salute cardiovascolare nei soggetti sovrappeso. In particolare, è emerso:

1. Una forte correlazione positiva tra la presenza di *Firmicutes* e la protezione cardiovascolare ($r=0,75$).
2. Una relazione inversa tra il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) e il rischio cardiovascolare.

Questi dati evidenziano il potenziale ruolo del microbiota intestinale nella modulazione del rischio cardiovascolare, suggerendo una complessa interazione tra microbiota, metabolismo e salute cardiovascolare.

La forte correlazione positiva ($r=0,75$) tra la presenza di *Firmicutes* e la protezione cardiovascolare è particolarmente interessante poiché i *Firmicutes*

sono spesso associati all'obesità, una condizione generalmente legata ad un aumento del rischio cardiovascolare. Tuttavia, la letteratura recente ha evidenziato che all'interno del phylum *Firmicutes* esistono diversi ceppi batterici con potenziali effetti benefici sulla salute metabolica e cardiovascolare.

Ad esempio, alcuni batteri appartenenti ai *Firmicutes*, come *Faecalibacterium prausnitzii*, sono noti per la loro capacità di produrre butirrato, un SCFA con proprietà antinfiammatorie. Il butirrato è stato ampiamente studiato per i suoi

effetti benefici sulla salute intestinale e per la sua capacità di migliorare la funzione endoteliale e ridurre l'infiammazione, entrambi fattori che contribuiscono alla protezione cardiovascolare. Canfora et al. (2015) ha confermato che gli SCFA, in particolare il butirrato, modula le risposte infiammatorie e ha un impatto positivo sul metabolismo lipidico, riducendo il rischio di malattie cardiovascolari. L'effetto cardioprotettivo potrebbe dunque derivare da un aumento della produzione di SCFA da parte di specifici *Firmicutes*, che contrastano l'infiammazione di basso grado associata all'obesità.

Studi come quello di Fu et al. (2015) hanno dimostrato che alcuni ceppi di *Firmicutes* possono influenzare positivamente il profilo lipidico, contribuendo a migliorare i livelli di colesterolo e trigliceridi, noti fattori di rischio per le malattie cardiovascolari. Ciò suggerisce che la presenza di specifici batteri appartenenti ai *Firmicutes* potrebbe essere associata a una regolazione più efficace del metabolismo lipidico.

Lo studio Yan et al. (2020) ha suggerito che alcuni *Firmicutes* potrebbero influenzare la regolazione della pressione arteriosa attraverso la produzione di metaboliti bioattivi. Questi metaboliti potrebbero modulare la risposta infiammatoria e migliorare la funzione endoteliale, contribuendo così alla regolazione della pressione arteriosa e riducendo il rischio cardiovascolare.

Questi risultati si aggiungono alla crescente evidenza che il microbiota intestinale, e in particolare il phylum *Firmicutes*, non solo contribuiscono al metabolismo energetico, ma possono anche modulare in modo positivo la

salute cardiovascolare nei soggetti sovrappeso, nonostante la loro tradizionale associazione con l'obesità.

Relazione inversa tra il rapporto F/B e il rischio cardiovascolare

La relazione inversa tra il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) e il rischio cardiovascolare osservata nello studio è coerente con un numero crescente di studi che hanno messo in luce la complessità del ruolo del microbiota nella salute cardiovascolare.

Koren et al. (2011) hanno dimostrato che alterazioni nella composizione del microbiota possono influenzare lo sviluppo dell'aterosclerosi, una delle principali cause di malattie cardiovascolari. In particolare, l'aumento di metaboliti derivati dal microbiota, come la trimetilammina N-ossido (TMAO), è stato correlato a un aumento del rischio di malattie cardiovascolari. Il TMAO deriva dalla conversione di composti come la carnitina, presenti in carni rosse e altri alimenti, da parte del microbiota intestinale, e può promuovere la formazione di placche aterosclerotiche.

Alterazioni nella composizione del microbiota possono anche contribuire allo sviluppo dell'ipertensione, un altro fattore di rischio cardiovascolare. Li et al. (2017) hanno osservato che un microbiota sbilanciato può interferire con i meccanismi che regolano la pressione sanguigna. Gli SCFA prodotti dal microbiota intestinale possono influenzare la dilatazione dei vasi sanguigni e la sensibilità dell'organismo all'insulina, due fattori cruciali per il mantenimento di una pressione arteriosa sana.

Tang et al. (2019) hanno sottolineato come alterazioni nel microbiota possano essere coinvolte nella progressione dell'insufficienza cardiaca. I cambiamenti nel microbiota possono esacerbare lo stato infiammatorio e metabolico, accelerando la disfunzione cardiaca.

Questi studi supportano l'idea che la composizione del microbiota possa giocare un ruolo cruciale nella modulazione del rischio cardiovascolare, con effetti sia positivi che negativi, a seconda della diversità microbica e della produzione di metaboliti specifici.

Un aspetto importante della connessione tra microbiota e salute cardiovascolare riguarda i metaboliti microbici, come gli SCFA, che possono

influenzare direttamente l'infiammazione, il metabolismo lipidico e la funzione endoteliale. Chambers et al. (2018) hanno dimostrato che gli SCFA prodotti dal microbiota possono modulare positivamente l'infiammazione e la funzione endoteliale, contribuendo così a una migliore salute cardiovascolare nei soggetti con un microbiota equilibrato.

Dall'altra parte come i Firmicutes anche i Bacteroidetes, secondo phylum più abbondante, hanno dimostrato di avere un impatto importante sulla salute cardiovascolare.

In particolare, lo studio Liu et al. (2018), ha dimostrato che i ceppi bacteroides sono in grado di metabolizzare efficacemente i lipidi della dieta influenza positivamente il profilo lipidico dell'ospite, contribuendo a ridurre i livelli di colesterolo LDL e trigliceridi, noti fattori di rischio cardiovascolare.

Sono noti produttori di propionato, acido grasso a catena corta (SCFA) con effetti benefici sul sistema cardiovascolare ovvero permette di ridurre l'infiammazione vascolare, migliorare la funzione endoteliale contribuendo alla protezione contro l'aterosclerosi. inoltre, sono in grado di regolare la pressione sanguigna producendo composti che influenzano il sistema renina angiotensina aldosterone. Alcuni ceppi di Bacteroidetes possono esercitare effetti antinfiammatori, riducendo la produzione di citochine proinfiammatorie.

Zheng et al. Hanno evidenziato come questi batteri siano efficienti nel metabolizzare le fibre complesse della dieta promuovendo la produzione di SCFA, l'assorbimento di nutrienti e la regolazione del peso corporeo.

Lo studio romano et al. (2015) ha dimostrato che certi ceppi di batteri di questo phyla sarebbero in grado di degradare la trimetilammina, precursore del TMAO, riducendo i livelli di questo metabolita pro-aterosclerotico.

I risultati dello studio sottolineano l'importanza di considerare non solo il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes*, ma anche le funzioni metaboliche specifiche delle diverse popolazioni batteriche. La correlazione positiva tra *Firmicutes* e protezione cardiovascolare suggerisce che i *Firmicutes* non sono intrinsecamente dannosi, ma che è essenziale esaminare il contributo funzionale di specifici ceppi batterici. Allo stesso modo, la relazione inversa

tra il rapporto F/B e il rischio cardiovascolare evidenzia come questo rapporto non possa essere considerato un indicatore universale di rischio metabolico. In futuro, studi più dettagliati a livello di genere e specie batteriche, combinati con analisi metaboliche, potrebbero fornire nuove informazioni sui meccanismi attraverso cui il microbiota intestinale influenza la salute cardiovascolare. Questo tipo di approccio personalizzato potrebbe aprire la strada a interventi terapeutici mirati basati sulla modulazione del microbiota, con l'obiettivo di prevenire o ridurre il rischio di malattie cardiovascolari nei soggetti sovrappeso.

5. Correlazione tra rapporto F/B e potenziale di longevità

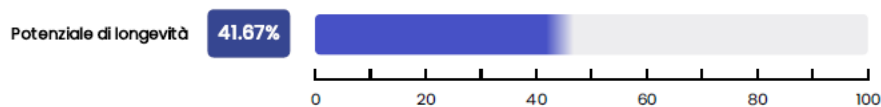
Lo studio ha evidenziato una correlazione interessante tra il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes* e il potenziale di longevità nei soggetti sovrappeso. I risultati mostrano che un microbiota con un maggiore equilibrio tra i due phyla, in particolare con una maggiore proporzione di *Firmicutes* rispetto ai *Bacteroidetes*, può essere associato ad un potenziale di longevità più elevato. Questo dato particolarmente significativo poiché, in passato, un rapporto F/B elevato è stato tradizionalmente collegato all'obesità, una condizione generalmente associata ad una ridotta aspettativa di vita. Tuttavia, la crescente complessità nelle interazioni tra microbiota, metabolismo ed invecchiamento suggerisce che la questione potrebbe essere più articolata di quanto sembra. Studi recenti, come quello di Biagi et al. (2016) sui centenari italiani, hanno rivelato che il microbiota di questi individui longevi è caratterizzato da una maggiore abbondanza di ceppi benefici, tra cui alcuni *Firmicutes*.

Questa categoria di batteri, tra cui *Faecalibacterium prausnitzii*, è nota per la produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA), come il butirrato, che hanno proprietà antiinfiammatorie e favoriscono l'integrità della barriera intestinale. Il butirrato, in particolare, è considerato cruciale per prevenire l'infiammazione cronica di basso grado, nota come inflammaging, un processo legato al deterioramento associato all'età.

Anche i *bacteroidetes*, sebbene generalmente presenti in minore proporzione nei soggetti con un rapporto F/B elevato, hanno un ruolo importante. Questi batteri sono coinvolti principalmente nella digestione delle fibre e nella

produzione di metaboliti che influenzano il metabolismo lipidico e glucidico, contribuendo a mantenere un equilibrio metabolico essenziale per la salute a lungo termine.

Infine, la relazione positiva tra un rapporto F/B più elevato e il potenziale di longevità potrebbe essere spiegata dall'effetto protettivo di specifici *Firmicutes*, capaci di modulare l'infiammazione e promuovere un metabolismo sano, favorendo così un invecchiamento più sano. Questo suggerisce che il rapporto F/B non debba essere considerato in modo univoco come negativo, ma valutato in base alla qualità e alla funzione dei ceppi batterici coinvolti, e non solo in termini quantitativi.



Profonda analisi relativa al post trattamento

Una considerazione particolarmente significativa è emersa dall'analisi di tre soggetti dello studio che hanno ripetuto il test dopo aver completato il trattamento personalizzato di medicina di precisione.

Questo trattamento, della durata di 24 settimane, ha rappresentato un approccio innovativo combinando modifiche dello stile di vita basate su tecniche di biohacking (monitoraggio continuo della glicemia, percorso sul sonno, esposizione alla luce solare, ecc) e una dieta personalizzata, dimostrando risultati promettenti nel migliorare vari aspetti della salute, in particolare a livello intestinale e cardiovascolare.

Le tecniche di biohacking implementate comprendevano il monitoraggio continuo della glicemia tramite sensori, permettendo ai partecipanti di osservare in tempo reale l'impatto dei diversi alimenti sui loro livelli di zucchero nel sangue. Questa consapevolezza immediata ha consentito aggiustamenti dietetici rapidi e mirati. Inoltre, è stato utilizzato un protocollo ottimizzare il sonno, che includeva l'uso di occhiali che filtrano la luce blu nelle ore serali, un accorgimento semplice ma efficace per migliorare la qualità del riposo. Un altro elemento chiave è stato un programma strutturato

di esposizione alla luce solare mattutina, progettato per regolare il ritmo circadiano dei partecipanti.

La componente nutrizionale del trattamento è stata altrettanto cruciale.

L'analisi delle diverse guide alimentari, sviluppate dal team di nutrizionisti in base ai report individuali dei test del microbiota, rivela un approccio nutrizionale focalizzato sul miglioramento della salute del microbiota intestinale, considerato fondamentale per il benessere generale e la longevità. Questi piani nutrizionali, pur essendo adattati alle esigenze specifiche di ciascun individuo, condividono principi comuni:

- Elevato consumo di verdure colorate e frutta di stagione per variare più possibile la dieta in modo tale da assimilare diversi nutrienti;
- Preferenza di carboidrati complessi e integrali, come cereali, patate e legumi, che sostituiscono circa il 50-55% dell'apporto energetico, per la loro capacità di rilasciare glucosio nel sangue più lentamente contribuendo a stabilizzare i livelli glicemici;
- Inclusione di proteine ad ogni pasto per avere un apporto bilanciato di nutrienti e per limitare l'innalzamento della glicemia postprandiale;
- Importanza di grassi "buoni" incoraggiando il consumo di olio d'oliva, frutta secca e avocado;
- Riduzione di alimenti infiammatori come cereali raffinati, zuccheri aggiunti e alcuni tipi di grassi;
- Importanza di una corretta idratazione per ottimizzare il lavoro muscolare, placare la fame, ridurre la stanchezza e garantire un buon funzionamento psico-fisico – (fabbisogno idrico: peso corporeo moltiplicato per 0,03);
- Uso di alimenti fermentati come kefir, kombucha e crauti per favorire una flora intestinale sana e diversificata.

L'integrazione mirata di prebiotici e probiotici ha giocato un ruolo centrale nel riequilibrio del microbiota intestinale e nella riduzione della permeabilità intestinale, contribuendo alla protezione vascolare e alla riduzione del rischio cardiovascolare.

I prebiotici sono fibre alimentari non digeribili che stimolano selettivamente la crescita di batteri benefici come i Bifidobacterium e i Lactobacillus, noti per i loro effetti positivi sulla produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA). Questi metaboliti, tra cui il butirrato, migliorano l'integrità della barriera intestinale e riducono l'infiammazione, come evidenziato in studi recenti. In particolare, uno studio di Markowiak e Slizewska (2017) ha mostrato che l'integrazione di probiotici può aumentare la diversità batterica e rafforzare la barriera intestinale, fattori cruciali nella prevenzione della disbiosi.

Nel nostro caso, la riduzione della permeabilità intestinale (-14,74%) e l'aumento della protezione dell'effetto barriera (+3,87%) sono in linea con questi dati, suggerendo un miglioramento delle funzioni protettive.

I probiotici, come i ceppi di Lactobacillus e Bifidobacterium, sono noti per migliorare la diversità microbica e ridurre la disbiosi. Sebbene l'indice di disbiosi sia aumentato in questi soggetti (+5,87%), è possibile che questo indichi una transizione verso un equilibrio intestinale più sano, che potrebbe richiedere più tempo per stabilizzarsi. Studi come quello di Leeming et al. (2019) hanno sottolineato la necessità di approcci a lungo termine per il ripristino completo della stabilità microbica, suggerendo che i miglioramenti richiedono interventi continuativi per ottenere risultati duraturi.

Dal punto di vista cardiovascolare, il trattamento personalizzato ha mostrato risultati promettenti con un miglioramento della protezione cardiovascolare (+5,67%) e una riduzione del rischio (-4,86%).

Lo studio Tang et al. (2017) ha riportato che il microbiota intestinale ha un'influenza diretta sulla salute cardiovascolare, con una regolazione positiva della pressione arteriosa e della funzione vascolare. I probiotici, infatti, possono aiutare a ridurre l'infiammazione sistemica e migliorare il metabolismo lipidico, fattori essenziali nella prevenzione di malattia cardiovascolari. Studi come quello di Singh et al. (2017) hanno dimostrato che una dieta personalizzata, insieme all'uso di probiotici, può modulare

efficacemente la composizione microbica intestinale, favorendo una salute migliore.

In conclusione, il nostro studio ha dimostrato che un approccio multifacettato, che combina tecniche di biohacking, una dieta personalizzata e l'uso mirato di prebiotici e probiotici, può portare a miglioramenti significativi nella salute intestinale e cardiovascolare. Tuttavia, l'aumento dell'indice di disbiosi sottolinea la complessità di questi interventi e la necessità di un monitoraggio a lungo termine per comprendere appieno l'evoluzione del microbiota in risposta a cambiamenti dietetici e di stile di vita. Questi risultati aprono nuove prospettive per interventi personalizzati basati sul microbiota, suggerendo che strategie a lungo termine e altamente individualizzate potrebbero essere la chiave per ottimizzare la salute microbica e, di conseguenza, il benessere generale.

CONCLUSIONI

Questo studio ha fornito importanti evidenze sulla composizione del microbiota intestinale nei soggetti sovrappeso e sulle sue interazioni con parametri chiave della salute, come la permeabilità intestinale, il rischio cardiovascolare e il potenziale di longevità.

Le principali conclusioni possono essere riassunte nei seguenti punti:

Composizione del microbiota nei soggetti sovrappeso

L'analisi del microbiota intestinale nei soggetti sovrappeso ha rivelato un rapporto Firmicutes/Bacteroidetes medio pari a 1,19, un valore che segnala uno squilibrio moderato rispetto alla popolazione sana. Questo è in linea con la letteratura esistente che evidenzia come l'obesità e il sovrappeso siano spesso accompagnati da un aumento del rapporto F/B, legato ad un maggiore assorbimento di energia dai nutrienti. Tuttavia, si è riscontrata una notevole variabilità interindividuale nella composizione microbica, indicando che ogni individuo possiede un microbiota unico che potrebbe rispondere in modo diverso ad interventi terapeutici o dietetici. Questa osservazione sottolinea l'importanza di approcci personalizzati nella gestione del sovrappeso.

Permeabilità intestinale e disbiosi

I risultati mostrano un aumento della permeabilità intestinale (o "leaky gut") nei soggetti sovrappeso, con valori medi pari a 18,1 e un range che va da 0 a 50. Questo indica che molte delle persone esaminate presentano una barriera intestinale compromessa, condizione che è stata associata ad una serie di disturbi cronici, tra cui l'infiammazione sistemica e le malattie metaboliche. L'indice di disbiosi medio di 37 conferma ulteriormente uno squilibrio significativo della comunità microbica intestinale, suggerendo che l'ecosistema microbico di questi individui non è ottimale. Questo risultato è particolarmente rilevante, poiché la disbiosi è sempre più riconosciuta come un fattore che contribuisce non solo all'obesità ma anche a numerose malattie croniche, inclusi diabete di tipo 2, infiammazione cronica e malattie cardiovascolari.

Correlazioni con la salute cardiovascolare: una delle scoperte più rilevanti dello studio è stata la correlazione positiva ($r=0,75$) tra la presenza di *Firmicutes* e la protezione cardiovascolare. Sebbene la maggior parte della letteratura suggerisca che un'elevata abbondanza di *Firmicutes* sia associata all'obesità, questi risultati indicano che il ruolo di questi batteri è più complesso. Alcuni ceppi di *Firmicutes*, in particolare quelli produttori di acidi grassi a catena corta (SCFA) come il butirrato, possono effettivamente proteggere la salute cardiovascolare grazie ai loro effetti anti-infiammatori e di migliorare la barriera intestinale. Al contrario, è stata osservata una relazione inversa tra il rapporto F/B e il rischio cardiovascolare, suggerendo che l'equilibrio tra questi due phyla batterici può influenzare il rischio metabolico.

Potenziale di longevità

Un risultato particolarmente interessante è stata la correlazione positiva tra il rapporto F/B e il potenziale di longevità. Questo suggerisce che, nei soggetti sovrappeso, un microbiota intestinale relativamente più ricco di *Firmicutes* rispetto ai *Bacteroidetes* potrebbe favorire un invecchiamento più sano. Tuttavia, il ruolo del microbiota nella longevità è ancora poco compreso, e ulteriori ricerche sono necessarie per chiarire come la composizione microbica influenzi il processo di invecchiamento.

Efficacia dell'intervento personalizzato

Uno degli spetti più significativi di questo studio è stata l'analisi post-trattamento di un sottogruppo di partecipanti che hanno seguito un trattamento personalizzato di 24 settimane basato su modifiche dello stile di vita, tecniche di biohacking e una dieta su misura. I risultati hanno mostrato miglioramenti tangibili in vari parametri, ad esempio, la permeabilità intestinale è diminuita del 14,74% e la protezione cardiovascolare è aumentata del 5,67%. Questi risultati sottolineano l'efficacia potenziale di interventi mirati che modifichino la composizione del microbiota e la

funzione intestinale. Tuttavia, è emerso anche un aumento dell'indice di disbiosi (+5,87%), un risultato che potrebbe riflettere una fase di transizione verso un equilibrio microbico più sano, come suggerito dalla letteratura (Leeming et al., 2019).

Limitazioni dello studio

Nonostante i risultati promettenti, questo studio presenta alcune limitazioni da considerare. La dimensione del campione relativamente ridotta (n=15), limita la generalizzabilità dei risultati. L'assenza di un gruppo di controllo diretto, sono stati considerati solamente i valori standard, e la durata dell'intervento potrebbero aver influenzato l'interpretazione degli effetti osservati. L'alta variabilità interindividuale nella composizione del microbiota e la possibile presenza di fattori confondenti non misurati rappresentano ulteriori sfide nell'interpretazione dei dati. La specificità della popolazione studiate (soggetti sovrappeso) e la possibile influenza di fattori geografici e culturali sulla composizione del microbiota potrebbero limitare l'applicabilità dei risultati ad altre popolazioni.

Queste limitazioni sottolineano la necessità di studi più ampi per confermare ed espandere i risultati ottenuti.

Sulla base dei risultati di questo studio e delle recenti scoperte in letteratura è possibile delineare diverse prospettive future nel campo del microbiota intestinale.

Per migliorare la comprensione delle complesse interazioni tra microbiota, salute metabolica e cardiovascolare è necessario condurre studi su larga scala, come il progetto PREDICT (Berry et al., 2020). Tale progetto ha seguito i partecipanti per periodi di tempo estesi fornendo dati interessanti sull'effetto di fattori come la dieta e lo stile di vita sulla composizione e sulla funzione del microbiota, permettendo di osservare cambiamenti nel tempo e stabilire relazioni causali tra microbiota e salute.

L'integrazione di approcci multi-omici rappresenta un'altra promettente direzione. La combinazione di analisi metagenomiche, metabolomiche e

proteomiche consente di ottenere una visione più olistica delle interazioni tra l'ospite e il microbiota, approfondendo la comprensione delle funzioni metaboliche e dei meccanismi molecolari alla base di disturbi come l'obesità e le malattie cardiovascolari. Studi come quello di Visconti et al. (2019) dimostrano come l'analisi multi-omica sia cruciale per decodificare l'intero impatto del microbiota sulla salute umana.

Sviluppare e testare interventi specifici per modulare il microbiota, come probiotici personalizzati o trapianti di microbiota fecale, potrebbero offrire nuove strategie terapeutiche. L'utilizzo di ceppi probiotici specifici, come *Akkermansia muciniphila* per il trattamento dell'obesità (Depommier et al., 2019), è solo un esempio di come un approccio terapeutico mirato possa avere effetti promettenti. Tali interventi potrebbero offrire nuove soluzioni terapeutiche per modulare il microbiota e promuovere una salute ottimale.

Un'altra area da esplorare è l'analisi funzionale del microbiota, che si concentra non solo sulla composizione tassonomica, ma anche sui metaboliti prodotti dai batteri intestinali e sulle loro funzioni specifiche. Lo studio di Feng et al. (2020) ha mostrato che l'analisi delle funzioni microbiche è fondamentale per comprendere il ruolo del microbiota nei disturbi metabolici, come l'obesità. Comprendere le attività metaboliche dei batteri intestinali potrebbe portare allo sviluppo di nuove strategie per la prevenzione e il trattamento di patologie croniche.

Un'altra area da esplorare è l'analisi funzionale del microbiota, che si concentra non solo sulla composizione tassonomica, ma anche sui metaboliti prodotti dai batteri intestinali e sulle loro funzioni specifiche. Lo studio di Feng et al. (2020) ha mostrato che l'analisi delle funzioni microbiche è fondamentale per comprendere il ruolo del microbiota nei disturbi metabolici, come l'obesità. Comprendere le attività metaboliche dei batteri intestinali potrebbe portare allo sviluppo di nuove strategie per la prevenzione e il trattamento di patologie croniche.

Infine, approfondire come le pratiche di biohacking, come il monitoraggio continuo della glicemia o l'ottimizzazione del sonno, influenzino il microbiota potrebbe aiutare a sviluppare strategie personalizzate di

miglioramento della salute. Studi come quello di Zmora et al. (2018), che hanno mostrato la variabilità individuale nella risposta ai probiotici, sottolineano l'importanza di personalizzare gli interventi sul microbiota per massimizzare i benefici per la salute.

In conclusione, questo studio ha dimostrato l'importanza di considerare il microbiota intestinale come un elemento chiave nella gestione del sovrappeso e nella prevenzione delle malattie cardiovascolari. I risultati dello studio forniscono una solida base per lo sviluppo di interventi personalizzati che mirano a modulare il microbiota per migliorare la salute metabolica e cardiovascolare. Tuttavia, l'elevata variabilità interindividuale e la complessità delle interazioni tra microbiota, metabolismo e salute sistemica richiedono ulteriori studi per ottimizzare queste strategie.

BIBLIOGRAFIA

Baothman, O. A., Zamzami, M. A., Taher, I., Abubaker, J., & Abu-Farha, M. (2016). The role of Gut Microbiota in the development of obesity and Diabetes. *Lipids Health Dis*, 15, 108. doi: 10.1186/s12944-016-0278-4. (Utilizzato nella parte attuali conoscenze e dieta).

Lucio Capurso (2016), Il microbiota intestinale.

Senghor B, Sokhna C, Ruimy R, & Lagier J. Gut microbiota diversity according to dietary habits and geographical provenance. *Human Microbiome Journal*. 2018.

Adak A, Khan MR. An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cell Mol Life Sci*. 2019 Feb;76(3):473-493. doi: 10.1007/s00018-018-2943-4. Epub 2018 Oct 13. PMID: 30317530; PMCID: PMC11105460.

Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol*. 2016 Aug 19;14(8):e1002533. doi: 10.1371/journal.pbio.1002533. PMID: 27541692; PMCID: PMC4991899.

Suzuki TA, Worobey M. Geographical variation of human gut microbial composition. *Biol Lett*. 2014 Feb 12;10(2):20131037. doi: 10.1098/rsbl.2013.1037. PMID: 24522631; PMCID: PMC3949373.

Aggarwal N, Kitano S, Puah GRY, Kittelmann S, Hwang IY, Chang MW. Microbiome and Human Health: Current Understanding, Engineering, and Enabling Technologies. *Chem Rev*. 2023 Jan 11;123(1):31-72. doi: 10.1021/acs.chemrev.2c00431. Epub 2022 Nov 1. PMID: 36317983; PMCID: PMC9837825.

Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, Kurilshikov A, Bonder MJ, Valles-Colomer M, Vandeputte D, Tito RY, Chaffron S, Rymenans L, Verspecht C, De Sutter L, Lima-Mendez G, D'hoel K, Jonckheere K, Homola D, Garcia R, Tigchelaar EF, Eeckhaut L, Fu J, Henckaerts L, Zhernakova A, Wijmenga C, Raes J. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science*. 2016 Apr 29;352(6285):560-4. doi: 10.1126/science.aad3503. Epub 2016 Apr 28. PMID: 27126039.

Pascale A, Marchesi N, Marelli C, Coppola A, Luzi L, Govoni S, Giustina A, Gazzaruso C. Microbiota and metabolic diseases. *Endocrine*. 2018 Sep;61(3):357-371. doi: 10.1007/s12020-018-1605-5. Epub 2018 May 2. PMID: 29721802.

Liu J, Tan Y, Cheng H, Zhang D, Feng W, Peng C. Functions of Gut Microbiota Metabolites, Current Status and Future Perspectives. *Aging Dis.* 2022 Jul 11;13(4):1106-1126. doi: 10.14336/AD.2022.0104. PMID: 35855347; PMCID: PMC9286904.

Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ.* 2018 Jun 13;361:k2179. doi: 10.1136/bmj.k2179. PMID: 29899036; PMCID: PMC6000740.

den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res.* 2013 Sep;54(9):2325-40. doi: 10.1194/jlr.R036012. Epub 2013 Jul 2. PMID: 23821742; PMCID: PMC3735932.

Levy M, Kolodziejczyk AA, Thaiss CA, Elinav E. Dysbiosis and the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2017 Apr;17(4):219-232. doi: 10.1038/nri.2017.7. Epub 2017 Mar 6. PMID: 28260787.

Weiss GA, Hennet T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell Mol Life Sci.* 2017 Aug;74(16):2959-2977. doi: 10.1007/s00018-017-2509-x. Epub 2017 Mar 28. PMID: 28352996; PMCID: PMC11107543.

Kinashi Y, Hase K. Partners in Leaky Gut Syndrome: Intestinal Dysbiosis and Autoimmunity. *Front Immunol.* 2021 Apr 22;12:673708. doi: 10.3389/fimmu.2021.673708. PMID: 33968085; PMCID: PMC8100306.

Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. (2006). Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444(7122), 1022-1023. <https://doi.org/10.1038/4441022a>.

Koliada A, Syzenko G, Moseiko V, Budovska L, Puchkov K, Perederiy V, Gavalko Y, Dorofeyev A, Romanenko M, Tkach S, Sineok L, Lushchak O, Vaiserman A. (2017). Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiology*, 17(1), 120. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1027-1>.

Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R, Gordon JI. (2009). A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 457(7228), 480-484. <https://doi.org/10.1038/nature07540>.

Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, Kurilshikov A, Bonder MJ, Valles-Colomer M, Van deputte D, Tito RY, Chaffron S, Rymenans L, Verspecht C, De Sutter L, Lima-Mendez G, D'hoel K, Jonckheere K,

Homola D, Garcia R, Tigchelaar EF, Eeckhaut L, Fu J, Henckaerts L, Zhernakova A, Wijmenga C, Raes J. (2016). Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science*, 352(6285), 560-564. <https://doi.org/10.1126/science.aad3503>.

Singh RK, Chang HW, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K, Abrouk M, Farahnik B, Nakamura M, Zhu TH, Bhutani T, Liao W. (2017). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal of Translational Medicine*, 15(1), 73. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1175-y>.

Tang WH, Kitai T, Hazen SL. (2017). Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circulation Research*, 120(7), 1183-1196. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.309715>.

Leeming ER, Johnson AJ, Spector TD, Le Roy CI. (2019). Effect of Diet on the Gut Microbiota: Rethinking Intervention Duration. *Nutrients*, 11(12), 2862. <https://doi.org/10.3390/nu11122862>.

Teixeira, T. F., Collado, M. C., Ferreira, C. L., Bressan, J., & Peluzio Mdo, C. (2012). Potential mechanisms for the emerging link between obesity and increased intestinal permeability. *Nutrition Research*, 32(9), 637-647. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2012.07.003>.

Bischoff, S. C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J. D., Serino, M., Tilg, H., Watson, A., & Wells, J. M. (2014). Intestinal permeability--a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterology*, 14, 189. <https://doi.org/10.1186/s12876-014-0189-7>.

Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Tuohy, K. M., Chabo, C., Waget, A., Delmée, E., Cousin, B., Sulpice, T., Chamontin, B., Ferrières, J., Tanti, J. F., Gibson, G. R., Casteilla, L., Delzenne, N. M., Alessi, M. C., & Burcelin, R. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56(7), 1761-1772. <https://doi.org/10.2337/db06-1491>.

Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R., & Gordon, J. I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444(7122), 1027-1031. <https://doi.org/10.1038/nature05414>.

Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., Ouwerkerk, J. P., Druart, C., Bindels, L. B., ... & Cani, P. D. (2013). Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences, 110(22), 9066-9071.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1219451110>.

Pedersen, H. K., Gudmundsdottir, V., Nielsen, H. B., Hyotylainen, T., Nielsen, T., Jensen, B. A., ... & Pedersen, O. (2016). Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature*, 535(7612), 376-381.
<https://doi.org/10.1038/nature18646>.

Tang WH, Kitai T, Hazen SL. Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circ Res*. 2017 Mar 31;120(7):1183-1196. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309715. PMID: 28360349; PMCID: PMC5390330.

Jonsson, A., Bäckhed, F. Ruolo del microbiota intestinale nell'aterosclerosi. *Nat Rev Cardiol* 14 , 79–87 (2017). <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2016.183>.

Romano, K. A., Vivas, E. I., Amador-Noguez, D., & Rey, F. E. (2015). Intestinal microbiota composition modulates choline bioavailability from diet and accumulation of the proatherogenic metabolite trimethylamine-N-oxide. *mBio*, 6(2), e02481-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.02481-14>.

Zheng, D., Liwinski, T., & Elinav, E. (2020). Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research*, 30(6), 492-506.
<https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>.

Liu, H., Wang, J., He, T., Becker, S., Zhang, G., Li, D., & Ma, X. (2018). Butyrate: A Double-Edged Sword for Health?. *Advances in Nutrition*, 9(1), 21-29.
<https://doi.org/10.1093/advances/nmx009>.

Wang, Z., Klipfell, E., Bennett, B. J., Koeth, R., Levison, B. S., DuGar, B., ... & Hazen, S. L. (2019). Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, 472(7341), 57-63.
<https://doi.org/10.1038/nature09922>.

Biagi E, Franceschi C, Rampelli S, Severgnini M, Ostan R, Turrioni S, Consolandi C, Quercia S, Scurti M, Monti D, Capri M, Brigidi P, Candela M. Gut Microbiota and Extreme Longevity. *Curr Biol*. 2016 Jun 6;26(11):1480-5. doi: 10.1016/j.cub.2016.04.016. Epub 2016 May 12. PMID: 27185560.

Kong F, Hua Y, Zeng B, Ning R, Li Y, Zhao J. Gut microbiota signatures of longevity. *Curr Biol*. 2016 Sep 26;26(18):R832-R833.

Franceschi C, Garagnani P, Morsiani C, Conte M, Santoro A, Grignolio A, Monti D, Capri M, Salvioli S. The Continuum of Aging and Age-Related Diseases: Common Mechanisms but Different Rates. *Front Med (Lausanne)*. 2018 Mar 12;5:61. doi: 10.3389/fmed.2018.00061. PMID: 29662881; PMCID: PMC5890129.

Markowiak P, Śliżewska K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*. 2017 Sep 15;9(9):1021. doi: 10.3390/nu9091021. PMID: 28914794; PMCID: PMC5622781.

Viré E, Brenner C, Deplus R, Blanchon L, Fraga M, Didelot C, Morey L, Van Eynde A, Bernard D, Vanderwinden JM, Bollen M, Esteller M, Di Croce L, de Launoit Y, Fuks F. The Polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation. *Nature*. 2006 Feb 16;439(7078):871-4. doi: 10.1038/nature04431. Epub 2005 Dec 14. Erratum in: *Nature*. 2007 Apr 12;446(7137):824. PMID: 16357870.

Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J. *et al.* Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* **500**, 541–546 (2013). <https://doi.org/10.1038/nature12506>.

Van Hul, M., Cani, P.D. The gut microbiota in obesity and weight management: microbes as friends or foe?. *Nat Rev Endocrinol* **19**, 258–271 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41574-022-00794-0>.

Fuke N, Nagata N, Suganuma H, Ota T. Regulation of Gut Microbiota and Metabolic Endotoxemia with Dietary Factors. *Nutrients*. 2019 Sep 23;11(10):2277. doi: 10.3390/nu11102277. PMID: 31547555; PMCID: PMC6835897.

Rakoff-Nahoum, S., Foster, K. & Comstock, L. The evolution of cooperation within the gut microbiota. *Nature* **533**, 255–259 (2016). <https://doi.org/10.1038/nature17626>.

Bedu-Ferrari C, Biscarrat P, Langella P, Cherbuy C. Prebiotics and the Human Gut Microbiota: From Breakdown Mechanisms to the Impact on Metabolic Health. *Nutrients*. 2022 May 17;14(10):2096. doi: 10.3390/nu14102096. PMID: 35631237; PMCID: PMC9147914.

Berry, S.E., Valdes, A.M., Drew, D.A. *et al.* Human postprandial responses to food and potential for precision nutrition. *Nat Med* **26**, 964–973 (2020).

Visconti, A., Le Roy, C.I., Rosa, F. *et al.* Interplay between the human gut microbiome and host metabolism. *Nat Commun* **10**, 4505 (2019).

Depommier, C., Everard, A., Druart, C. *et al.* Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat Med* **25**, 1096–1103 (2019).

Muller, P.A., Schneeberger, M., Matheis, F. *et al.* Microbiota modulate sympathetic neurons via a gut–brain circuit. *Nature* **583**, 441–446 (2020).

Franzosa EA, Morgan XC, Segata N, Waldron L, Reyes J, Earl AM, Giannoukos G, Boylan MR, Ciulla D, Gevers D, Izard J, Garrett WS, Chan AT, Huttenhower C. Relating the metatranscriptome and metagenome of the human gut. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Jun 3;111(22):E2329-38. doi: 10.1073/pnas.1319284111. Epub 2014 May 19. PMID: 24843156; PMCID: PMC4050606.

Reck, M., Tomasch, J., Deng, Z. *et al.* Stool metatranscriptomics: A technical guideline for mRNA stabilisation and isolation. *BMC Genomics* **16**, 494 (2015).

Prakash O, Nimonkar Y, Desai D. A Recent Overview of Microbes and Microbiome Preservation. *Indian J Microbiol*. 2020 Sep;60(3):297-309. doi: 10.1007/s12088-020-00880-9. Epub 2020 Jul 1. PMID: 32655197; PMCID: PMC7329975.