

# Il legame tra il microbiota intestinale e le patologie cardiovascolari

Viviana Gerardi, Fabio Del Zompo, Francesca D'Aversa, Antonio Gasbarrini

*Istituto di Medicina Interna e Gastroenterologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma*

The prevalence of cardiometabolic disorders (obesity, type 2 diabetes and cardiovascular disorders) is increasing globally and is a leading cause of mortality worldwide. Both genetics and environmental factors are involved in the pathogenesis of these disorders. Recent studies have shown that a state of dysbiosis may be implicated in body weight control, insulin resistance and cardio-metabolic risk factors, but the underlying mechanisms remain to be fully understood. Here we describe the possible role of the gut microbiota in cardiovascular diseases.

**Key words.** Atherosclerosis; Cardiovascular diseases; Diabetes mellitus; Gut microbiota; Hypertension; Microbiome; Obesity.

G Ital Cardiol 2016;17(1):11-14

## IL MICROBIOTA INTESTINALE

Il microbiota intestinale è formato da numerose popolazioni microbiche: batteri, miceti, batteriofagi e virus, oggi definiti "mutualisti". Attraverso un'associazione sinergica con l'apparato digerente, il microbiota intestinale lo controlla e costituisce un ecosistema di fondamentale importanza per la vita dell'uomo.

La composizione quali-quantitativa della flora varia nei diversi tratti dell'intestino. In particolare a livello gastrico è possibile isolare una concentrazione batterica pari circa a  $10^3$  CFU/ml. Tale concentrazione cresce progressivamente nel piccolo intestino arrivando a circa  $10^2$ - $10^9$  CFU/ml e nel grosso intestino dove si raggiungono concentrazioni pari circa a  $10^4$ - $10^{12}$  CFU/ml. Tali specie batteriche appartengono principalmente ai phyla (divisioni) dei *Firmicutes* e dei *Bacteroidetes*, entrambi derivanti da un precursore comune: il *Methanobrevibacter smithii*.

I batteri che compongono il microbiota intestinale sono più di mille specie, con un peso complessivo di circa 1.5 kg e più di 15 000 ceppi differenti. Il 70-90% sono anaerobi obbligati (Gram-positivi, come *Clostridium* e *Bifidobacterium*, e Gram-negativi, come *Bacteroides*) detti anche "estremofili" perché la loro crescita in coltura necessita di tecniche microbiologiche sofisticate. Da uno studio condotto dallo Human Microbiome Project e European MetaHIT Consortium si evince che la flora batterica intestinale umana, pur essendo costituita da un grandissimo numero di ceppi diversi, può essere distinta in tre grandi generi, ossia *Bacteroides*, *Prevotella* e *Ruminococcus*<sup>2</sup>.

L'interesse crescente al microbiota intestinale nella modulazione delle patologie extra-intestinali deriva dall'evidenza che, a seconda del tipo di alimentazione dell'individuo, un genere

batterico può risultare prevalente dando origine a corrispondenti enterotipi diversi: ad esempio, i vegetariani "puri" hanno un enterotipo *Ruminococcus*, mentre coloro che seguono la tipica dieta occidentale sono dell'enterotipo *Bacteroides*. Ciò può essere importante anche dal punto di vista metabolico, in quanto i diversi enterotipi hanno funzioni metaboliche differenti, a causa della prevalenza di determinati ceppi batterici rispetto ad altri. L'enterotipo tende a rimanere stabile in ciascun singolo individuo e può essere ripristinato nella sua composizione anche dopo una sua momentanea alterazione, indotta ad esempio da terapia antibiotica<sup>3</sup>. La colonizzazione microbica comincia immediatamente dopo la nascita e, in seguito, la composizione del microbiota si modifica influenzata da fattori come il genotipo, il sesso, l'età, lo stato di maturazione immunitaria e i vari fattori ambientali. Complessivamente, il microbiota è caratterizzato da una flora endogena (che rimane stabile per tutta la vita) e da una transitoria<sup>4</sup>. L'intestino rappresenta infatti uno degli organi a maggior contatto con differenti agenti esogeni (batteri, virus, allergeni), costituendo la prima barriera difensiva nei confronti di microrganismi patogeni che possono aggredire l'organismo.

La composizione del microbiota intestinale nella prima età infantile è molto importante per la cosiddetta "educazione immunologica" dell'individuo: una carente esposizione dei bambini piccoli ai *Bifidobacterium* e/o l'eliminazione dei bifidobatteri dall'intestino (conseguente ad antibiotico-terapia) può determinare una maturazione "sbilanciata" del sistema immunitario (con una carente "rimozione" della risposta Th2, tipica del neonato)<sup>3</sup>.

Anche se l'impatto del microbiota intestinale sulla salute dell'ospite è ben documentato, i meccanismi con cui tale ecosistema esercita i suoi effetti rimangono ancora in parte oscuri, dal momento che le tecniche per identificarlo sono tutte basate sulla coltivazione dei microrganismi e circa il 70-80% degli stessi non è coltivabile<sup>1</sup>. Metodi coltura-indipendenti, basati sul 16S RNA ribosomiale (rRNA) e il suo gene corrispondente, permettono una migliore identificazione filogenetica dello stesso. Pertanto, l'impiego delle tecnologie meta-"omiche" può contribuire significativamente alla comprensione dei fat-

© 2016 Il Pensiero Scientifico Editore  
Ricevuto 24.06.2015; nuova stesura 06.10.2015; accettato 11.11.2015.  
Gli autori dichiarano nessun conflitto di interessi.

Per la corrispondenza:

**Prof. Antonio Gasbarrini** Istituto di Medicina Interna e Gastroenterologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Policlinico A. Gemelli, Largo A. Gemelli, 00168 Roma  
e-mail: agasbarrini@rm.unicatt.it

tori che definiscono la distribuzione spaziale dei membri del microbiota intestinale, il modo in cui la sua composizione e le sue attività metaboliche sono regolate e come la sua stabilità funzionale si mantiene anche in seguito a modificazioni ambientali.

Il microbiota intestinale ha molte importanti funzioni per il mantenimento dello stato di salute dell'ospite: è implicato nella funzione di "barriera", in quella immunologica, in quella metabolica e nel condizionamento del comportamento.

Tra il microbiota intestinale e l'ospite esiste un delicato equilibrio, mantenuto tramite vari meccanismi che se vengono alterati possono determinare la comparsa di malattie gastrointestinali o extra-intestinali<sup>5</sup>.

Alla luce di tali evidenze, il trattamento di questi disturbi oggi si avvale di agenti che modulano la flora batterica intestinale, tra cui antibatterici scarsamente assorbibili ad azione locale, prebiotici e probiotici.

## LA FUNZIONE METABOLICA DEL MICROBIOTA INTESTINALE

I batteri intestinali traggono l'energia necessaria attraverso il metabolismo di zuccheri e proteine; i polisaccaridi non digeribili della dieta (es. la cellulosa) vengono trasformati grazie ad enzimi batterici che trasformano il materiale derivante dagli alimenti in sostanze volatili (anidride carbonica, idrogeno solforato, ecc.) e acidi grassi a catena corta: tra questi l'acido acetico, l'acido butirrico e l'acido propionico. La sintesi degli acidi grassi determina un'acidificazione del pH intestinale, che funge da sistema di difesa contro i microrganismi patogeni e consente la crescita delle cellule intestinali epiteliali, favorendone la proliferazione e la differenziazione<sup>4</sup>. Molti studi, anche su modelli murini, hanno dimostrato che la flora intestinale di ciascun individuo è implicata nell'acquisizione energetica e nella regolazione energetica.

## ALTERAZIONI DEL MICROBIOTA INTESTINALE E PATOLOGIE CARDIOVASCOLARI

L'obesità è una condizione patologica che interessa un numero crescente di individui, predisponendo ad una serie di patologie che possono compromettere in maniera importante la salute degli individui affetti da tale condizione, come ad esempio il diabete mellito di tipo 2, le malattie cardiovascolari, la sindrome delle apnee notturne, ecc.

Non vi è dubbio che una dieta ipercalorica e la scarsa attività fisica siano i principali fattori che conducono all'obesità, ma è intrigante notare come alcuni studi su animali dimostrino che il microbiota intestinale sia in grado di influenzare l'assorbimento dei nutrienti e l'immagazzinamento dell'energia.

Nel 2004 il gruppo di ricerca di Jeffrey Gordon (Washington University, USA) ha evidenziato una possibile relazione tra la composizione della flora microbica intestinale e l'obesità, focalizzando l'attenzione sulle proporzioni delle due principali divisioni batteriche componenti il microbiota: i *Firmicutes* e i *Bacteroidetes*; emergeva una prevalenza dei primi rispetto ai secondi nel soggetto obeso, ed in particolare delle *Prevotellaceae*<sup>5,6</sup>.

La colonizzazione di topi "germ-free" con una flora batterica di derivazione obesa determina un aumento del grasso totale pari al 60% in più rispetto a topi colonizzati con la flora batterica di un topo normopeso, dimostrando che questo fe-

notipo obeso è trasmissibile. L'aumento di tessuto adiposo, inoltre, si verifica indipendentemente dalla quantità di flora batterica acquisita o dalla diminuzione nel dispendio energetico<sup>7</sup>.

Inoltre, una disbiosi del microbiota intestinale in soggetti obesi promuove un'alterazione della permeabilità di membrana, un incremento dell'endotossinemia metabolica (con alti livelli di lipopolisaccaride circolanti, la cui provenienza prevede due ipotesi: l'aumentata permeabilità di membrana negli obesi o l'assunzione dai chilomicroni dalla dieta<sup>7</sup>) che funge da trigger per i disordini indotti da un'infiammazione di basso grado (insulino-resistenza, diabete, obesità, steatosi e stress ossidativo) e un'alterata modulazione del *glucagon-like peptide* (GLP)-1 e GLP-2<sup>8</sup>. È stato osservato, infine, che un trattamento con *Bifidobacterium* spp. in topi obesi determina un aumento di GLP-2, producendo un decremento dell'endotossinemia metabolica e una migliore funzionalità della barriera intestinale<sup>9</sup>.

Membrez et al.<sup>10</sup> hanno ipotizzato che un cambiamento nel microbiota intestinale fosse implicato nella patogenesi del diabete mellito di tipo 2 e per dimostrarlo hanno modulato lo stesso attraverso l'uso di antibiotici in alcuni modelli murini. Da tale studio è emerso che la modulazione del microbiota intestinale migliora la tolleranza al glucosio alterando l'espressione di geni coinvolti nell'infiammazione e nel metabolismo e cambiando lo status ormonale, infiammatorio e metabolico dell'ospite. Vi è, infatti, una riduzione nella produzione di fattore di necrosi tumorale e lipopolisaccaride, un incremento nel deposito di glicogeno e una diminuzione nell'accumulo di trigliceridi nel fegato.

Qin et al.<sup>11</sup> hanno studiato le caratteristiche genetiche della flora intestinale di 345 pazienti cinesi e hanno osservato che i pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2 hanno un deficit di batteri coinvolti nella produzione di butirrati, importantissimi per il trofismo degli enterociti, e un incremento di patogeni opportunisti. Il meccanismo sarebbe il seguente: un danno al livello della barriera intestinale, che si esplica in un aumento della stessa, determina il passaggio in circolo di sostanze in grado di innescare processi infiammatori o di interferire con il normale "signaling" del recettore insulinico, contribuendo quindi all'insorgenza di insulino-resistenza (come già descritto).

Alcuni studi hanno dimostrato che il microbiota intestinale possa essere uno dei fattori implicati nel promuovere l'aterosclerosi. Ad esempio, da uno studio sul microbioma di 25 soggetti, è emersa la predominanza del genere *Collinsella* (*Actinobacteria*) nei 12 soggetti affetti da aterosclerosi carotidea sintomatica e del genere *Roseburia* ed *Eubacterium* (*Firmicutes*) nei 13 controlli sani.

Di notevole interesse è il ruolo obbligato del microbiota nella produzione di trimetilamina-N-ossido (TMAO) a partire da carnitina e fosfatidilcolina assunte con la dieta, come osservato in diversi studi su modelli murini e su individui affetti da patologia cardiovascolare. Tali studi<sup>12-15</sup> hanno dimostrato che la produzione di TMAO dopo "challenge" con dosi orali di carnitina e/o colina è strettamente dipendente dal microbiota, essendo fortemente ridotta a seguito di un recente ciclo di terapia antibiotica ad ampio spettro. Da notare che la produzione di TMAO, dopo carico di carnitina, si è rivelata significativamente più elevata negli individui onnivori rispetto ad una popolazione vegetariana/vegana nello studio di Koeth et al.<sup>13</sup>. La progressione dell'aterosclerosi promossa da TMAO è ascrivibile a multiple interferenze nel metabolismo del colesterolo, ad esempio a livello del trasporto inverso e della clearance biliare<sup>13</sup>. Sul piano clinico, un elevato livello sierico di TMAO si è dimostrato un fat-

**Tabella 1.** Relazione tra livelli sierici di trimetilamina-N-ossido e suoi precursori ed eventi cardiovascolari maggiori occorsi in un periodo di osservazione di 3 anni in tre differenti studi di coorte.

Studio	N. pazienti	Outcome	Follow-up (anni)	Livello del precursore	Livelli di TMAO	HR (IC 95%)
Wang et al. <sup>15</sup> , 2014	3903	MACE	3	Colina bassa Colina elevata Colina bassa Colina elevata	Bassi Bassi Elevati Elevati	1.0 (riferimento) 1.0 (0.8-1.4) 1.4 (1.0-1.8) 1.6 (1.2-2.0)
Tang et al. <sup>14</sup> , 2013	4007	MACE	3	ND	1° quartile 2° quartile NS 3° quartile 4° quartile	1.00 (riferimento) 1.24 (0.93-1.66) NS 1.53 (1.16-2.02) p=0.003 2.54 (1.96-3.28) p<0.001
Koeth et al. <sup>13</sup> , 2013	2595	MACE	3	Carnitina elevata Carnitina bassa Carnitina bassa Carnitina elevata	Bassi Bassi Elevati Elevati	0.8 (0.5-1.3) 1.0 (riferimento) 1.3 (1.02-1.7) 2.1 (1.5-2.8)

HR, hazard ratio; IC, intervallo di confidenza; MACE, eventi cardiovascolari avversi maggiori (morte, infarto del miocardio, ictus); ND, non disponibile; TMAO, trimetilamina-N-ossido.

tore di rischio indipendente di prevalenza ed incidenza di patologia cardiovascolare nell’arco di un follow-up di 3 anni in un’ampia coorte di pazienti (Tabella 1)<sup>13-15</sup>. Parimenti, un elevato livello sierico di TMAO si è confermato un valido fattore prognostico di mortalità a 5 anni in una coorte di oltre 700 pazienti con scompenso cardiaco su base ischemica e non ischemica<sup>16</sup>.

Infine, il microbioma interagirebbe anche con il ciclo metionina-omocisteina, come dimostrato dallo studio RISTOMED<sup>17-19</sup>.

Da uno studio di Yang et al.<sup>20</sup> è emerso anche un possibile legame tra disbiosi ed ipertensione arteriosa. In particolare, è stato osservato un aumento del rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes* in due modelli di ratto affetti da ipertensione, con una diminuzione dei batteri produttori di acetato e butirrato; risultati sovrapponibili sono stati ottenuti in una piccola coorte di pazienti affetti da ipertensione arteriosa, in cui era presente disbiosi.

Le evidenze citate, dimostrando il coinvolgimento del microbiota a vari livelli della genesi dei fattori di rischio cardiovascolare, suggeriscono la possibilità di modulare il microbiota al fine di migliorare gli outcome cardiovascolari. Con queste premesse, Gan et al.<sup>21</sup> hanno dimostrato che la somministrazione di *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 in un modello murino di cardiopatia ischemica ha attenuato il rimodellamento post-ischemico e diversi parametri emodinamici correlati allo scompenso cardiaco, tracciando il sentiero per futuri trial interventistici sull’essere umano.

## CONCLUSIONI

Il microbiota intestinale ha un ruolo emergente nella patogenesi di numerose patologie, compresi il diabete di tipo 2, la sindrome metabolica, i disordini cardiovascolari. Ad ogni modo, esso costituisce al momento un ambito di ricerca intrigante da approfondire, dal momento che ciò che sappiamo a riguardo è ancora limitato e saranno necessari studi clinici su un numero più ampio di pazienti per avere evidenze clinicamente utilizzabili.

## RIASSUNTO

La prevalenza dei disordini cardio-metabolici (obesità, diabete di tipo 2 e malattie cardiovascolari) è in progressiva crescita in tutto il mondo ed è una delle prime cause di mortalità globale. Nella patogenesi di tali disordini sono implicati sia la genetica, sia i fattori ambientali. Da recenti studi è emerso che uno stato di disbiosi può essere implicato nel controllo del peso corporeo, nell’insulino-resistenza e nei fattori di rischio cardio-metabolici, ma i meccanismi alla base, ad oggi, non sono ancora del tutto chiari. Viene qui analizzato il possibile ruolo del microbiota intestinale nelle patologie cardiovascolari.

**Parole chiave.** Aterosclerosi; Diabete mellito; Ipertensione arteriosa; Microbioma; Microbiota intestinale; Obesità; Patologie cardiovascolari.

## BIBLIOGRAFIA

- Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005;308:1635-8.
- Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473:174-80.
- Scaldaferri F, Pizzoferrato M, Gerardi V, Lopetuso L, Gasbarrini A. The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches. *J Clin Gastroenterol* 2012;46(Suppl):S12-7.
- Guarner F. Prebiotics and mucosal barrier function. *J Nutr* 2006;136:2269; author reply 70-1.
- Natividad JM, Verdu EF. Modulation of intestinal barrier by intestinal microbiota: pathological and therapeutic implications. *Pharmacol Res* 2013;69:42-51.
- Tremaroli V, Backhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 2012;489:242-9.
- Tilg H, Kaser A. Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. *J Clin Invest* 2011;121:2126-32.
- Cani PD, Delzenne NM. Involvement of the gut microbiota in the development of low grade inflammation associated with obesity: focus on this neglected partner. *Acta Gastroenterol Belg* 2010;73:267-9.
- Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut* 2009;58:1091-103.
- Membrez M, Blancher F, Jaquet M, et al. Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J* 2008;22:2416-26.

11. Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012;490:55-60.
12. Koeth RA, Levison BS, Culley MK, et al. gamma-Butyrobetaine is a proatherogenic intermediate in gut microbial metabolism of L-carnitine to TMAO. *Cell Metab* 2014;20:799-812.
13. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med* 2013;19:576-85.
14. Tang WH, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2013;368:1575-84.
15. Wang Z, Tang WH, Buffa JA, et al. Prognostic value of choline and betaine depends on intestinal microbiota-generated metabolite trimethylamine-N-oxide. *Eur Heart J* 2014;35:904-10.
16. Tang WH, Wang Z, Fan Y, et al. Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: refining the gut hypothesis. *J Am Coll Cardiol* 2014;64:1908-14.
17. Griffin JL, Wang X, Stanley E. Does our gut microbiome predict cardiovascular risk? A review of the evidence from metabolomics. *Circ Cardiovasc Genet* 2015;8:187-91.
18. Joseph J, Loscalzo J. Nutri(meta)genetics and cardiovascular disease: novel concepts in the interaction of diet and genomic variation. *Curr Atheroscler Rep* 2015;17:505.
19. Tang WH, Hazen SL. The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2014;124:4204-11.
20. Yang T, Santisteban MM, Rodriguez V, et al. Gut dysbiosis is linked to hypertension. *Hypertension* 2015;65:1331-40.
21. Gan XT, Ettinger G, Huang CX, et al. Probiotic administration attenuates myocardial hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in the rat. *Circ Heart Fail* 2014;7:491-9.