63° CONGRESSO NAZIONALE SIGG
GLI ANZIANI: LE RADICI DA PRESERVARE
ROMA 28 novembre 01 dicembre 2018

RUOLO PROTETTIVO DEL MICROBIOTA INTESTINALE NEI MECCANISMI NEUROPATOLOGICI MEDIATI DA BETA-AMILOIDE

Dr. Paolo Mazzola
Università degli Studi di Milano-Bicocca
Dipartimento di Medicina e Chirurgia
NeuroMI – Centro di Neuroscienze di Milano

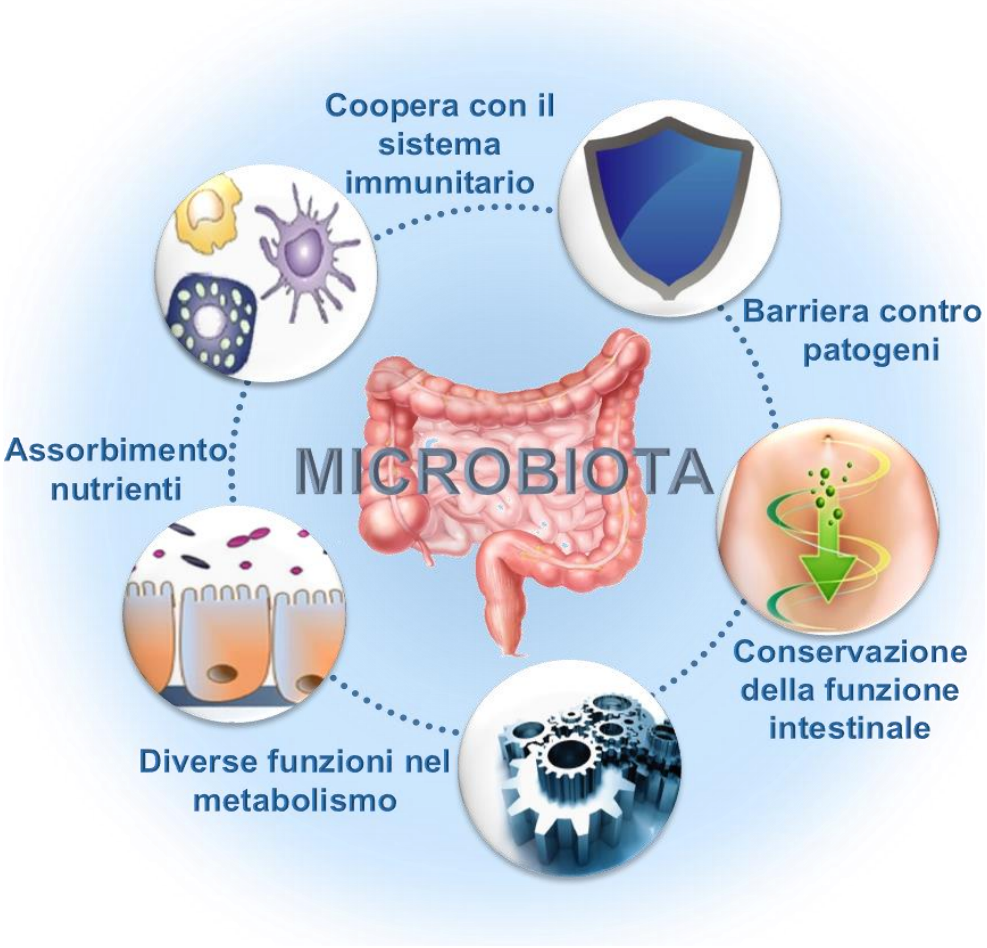
1998-2018
20 UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO BICOCCA
VENTESIMO ANNIVERSARIO

Microbiota o microbioma?

- Insieme dei microrganismi residenti nell'intestino umano
- Estremamente eterogeneo
- Comprende batteri, archeobatteri e funghi, con ruoli variabili: commensali, simbionti, e infine ai patogeni
- Alta variabilità inter-individuale

Microbioma: l'insieme dei geni dell'intero microbiota

L'utilità del microbiota



- Più di 1000 specie
- Peso complessivo 1 kg
- Colonizza tutte le mucose
- 70% risiede nel colon
- Conta 1 milione di miliardi di elementi
- Il nostro organismo è formato per il 10% da cellule eucariote, per il 90% dal microbiota!

Ruolo del microbiota

- Le differenze esistenti in termini di composizione, specie e loro densità hanno dimostrato di essere correlate con un numero crescente di patologie:
  - Disturbi immunologici
  - Obesità e sindrome metabolica
  - Malattie cardiovascolari
  - Patologie neurodegenerative
- Possibile ruolo protettivo:
  - Interferenza con potenziali microrganismi patogeni
  - Funzione di barriera
  - Immunomodulazione
  - Produzione di neurotrasmettitori

Microbiota e dieta

Metabolizzazione di molecole complesse in altre più semplici e facilmente assorbibili e/o biologicamente attive

Esempio: influenza del microbiota sulla biodisponibilità e attività dei polifenoli assunti con la dieta

Acido caffeico e acido ferulico sono biodisponibili: da un lato inibiscono la formazione di Aβ, dall'altro riducono lo stress ossidativo e la risposta infiammatoria (accentuati nella AD)

Mori T, et al. PLoS One 2013;8(2):e5574.
Sadeghi ES, et al. Food Chem 2016;204:453–462

Metabolizzazione dei polifenoli

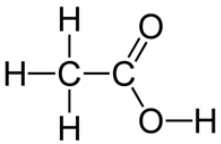
- Un recente studio condotto primariamente presso il Center for Molecular Integrative Neuroresilience, guidato dal Prof. G.M. Pasinetti, ha evidenziato altri due composti biologicamente attivi e derivati dalla metabolizzazione da parte del microbiota: l'*acido 3-idrossibenzoico* e l'*acido 3-3'-idrossifenil-propionico*

Sono in grado di interferire con l'aggregazione della β-amiloide a formare gli accumuli neurotossici propri della neuropatologia da AD

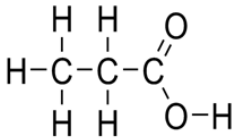
Wang D, et al. Mol Nutr Food Res. 2015;59(6):1025–1040

Microbiota e metabolismo delle fibre

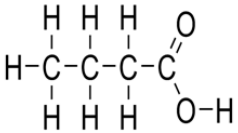
- Le fibre assunte con la dieta – non idrolizzate nel tenue – vengono metabolizzate nel colon dal microbiota
- Si ottengono acidi grassi a catena corta (short-chain fatty acids):
  - Acido isovalerico (C5)
  - Acido Isobutirrico e butirrico (C4)
  - Acido Propionico (C3)
  - Acido Acetico (C2)
  - Acido Formico (C1)



Acetic acid (acetate)



Propionic acid (propionate)



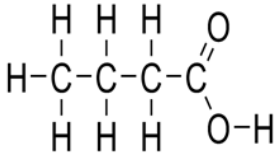
Butyric acid (butyrate)

- Gli SCFAs potrebbero attenuare la progressione di AD fungendo da substrati alternativi in un contesto di ridotto metabolismo cerebrale

Den Besten G, et al. J Lipid Res. 2013;54(9):2325–2340

Ruolo degli SCFA

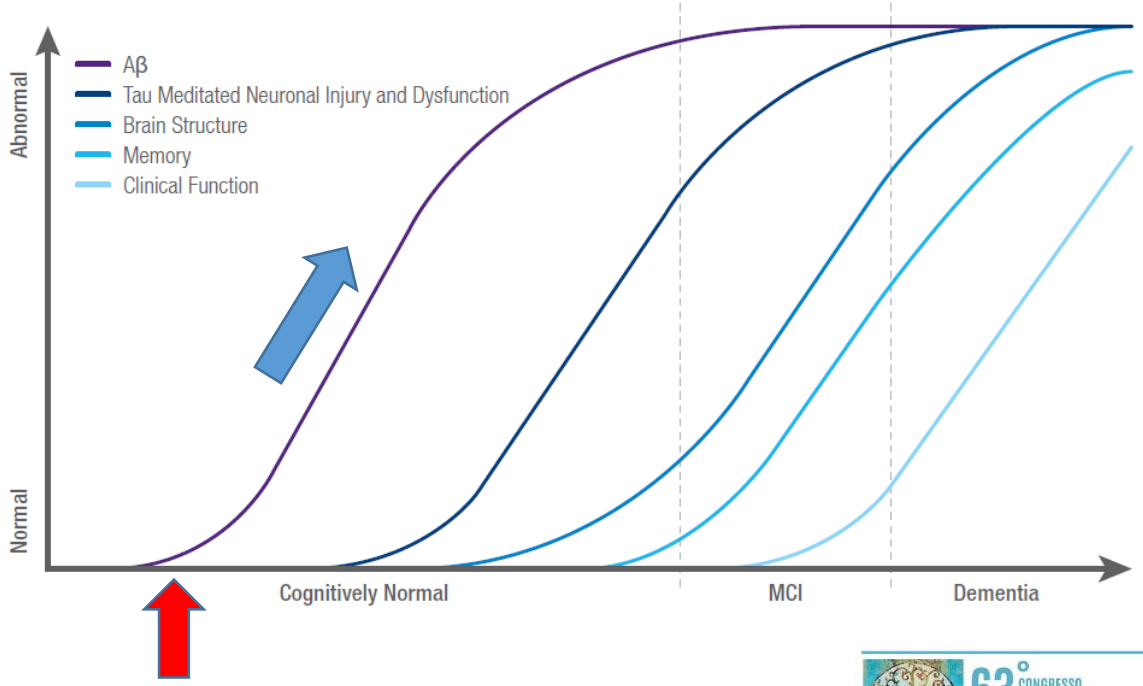
- È stato dimostrato come alcuni SCFAs possano intervenire nella maturazione e funzione della microglia nel SNC, modulando quindi i processi neuro-infiammatori implicati nella neurodegenerazione
- La produzione di acido butirrico mediante metabolismo batterico a partire dalle fibre assunte con la dieta potrebbe avere un ulteriore ruolo protettivo, tramite un meccanismo epigenetico di inibizione dell'enzima istone-deacetilasi e normalizzazione dell'aberrante acetilazione che caratterizza AD



Butyric acid (butyrate)

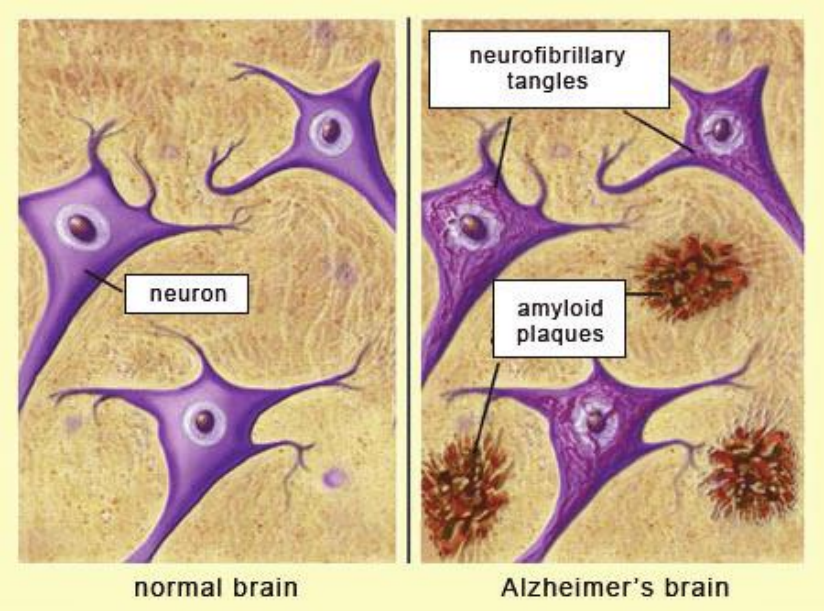
Una potenziale strategia precoce

- Lo stesso gruppo di ricerca del **Center for Molecular Integrative Neuroresilience** ha condotto un ulteriore studio: indagare il ruolo degli SCFA nell'inibire l'aggregazione di Aβ in vitro



Potenziale anti-aggregazione di Aβ

- L'aggregazione di beta-amiloide a formare oligomeri inizia con un'interazione proteina-proteina
- Abbiamo testato la potenzialità di alcuni SCFA nell'inibire il processo di aggregazione, impedendo la fase iniziale della formazione di aggregati neurotossici

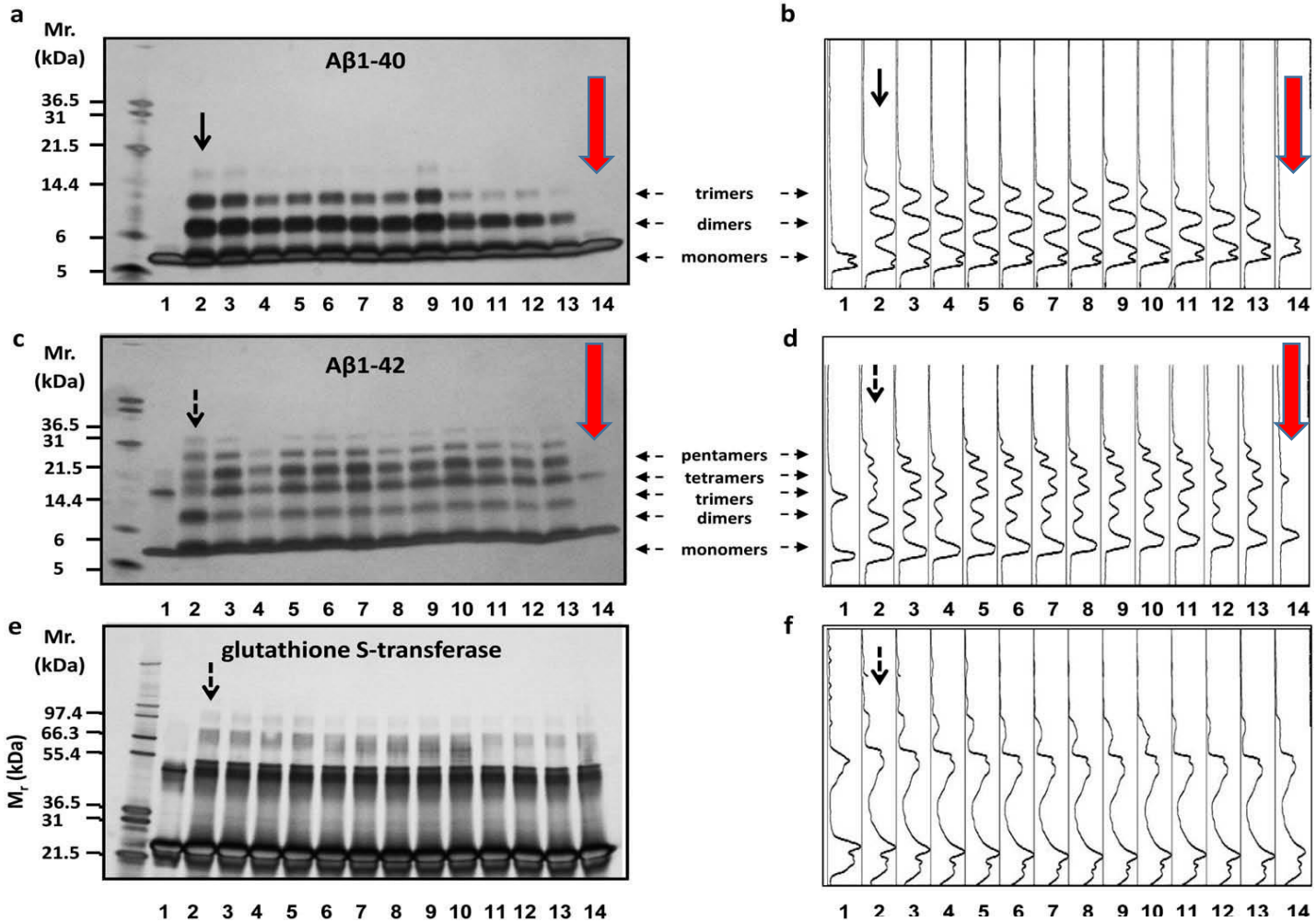


Esperimento

- Analisi in vitro di 6 composti derivati dal metabolismo da parte del microbiota intestinale:
  - Acido isovalerico
  - Acido valerico
  - Acido butirrico
  - Acido propionico
  - Acido acetico
  - Acido formico

Per ciascuno di essi è stata valutata la capacità di inibire l'aggregazione di Aβ

Alcuni SCFA agiscono da inibenti



Ho L, et al. Exp Rev Neurotherap 2018;18(1):83-90

63° CONGRESSO NAZIONALE SIGG
GLI ANZIANI: LE RADICI DA PRESERVARE
ROMA 28 novembre 01 dicembre 2018

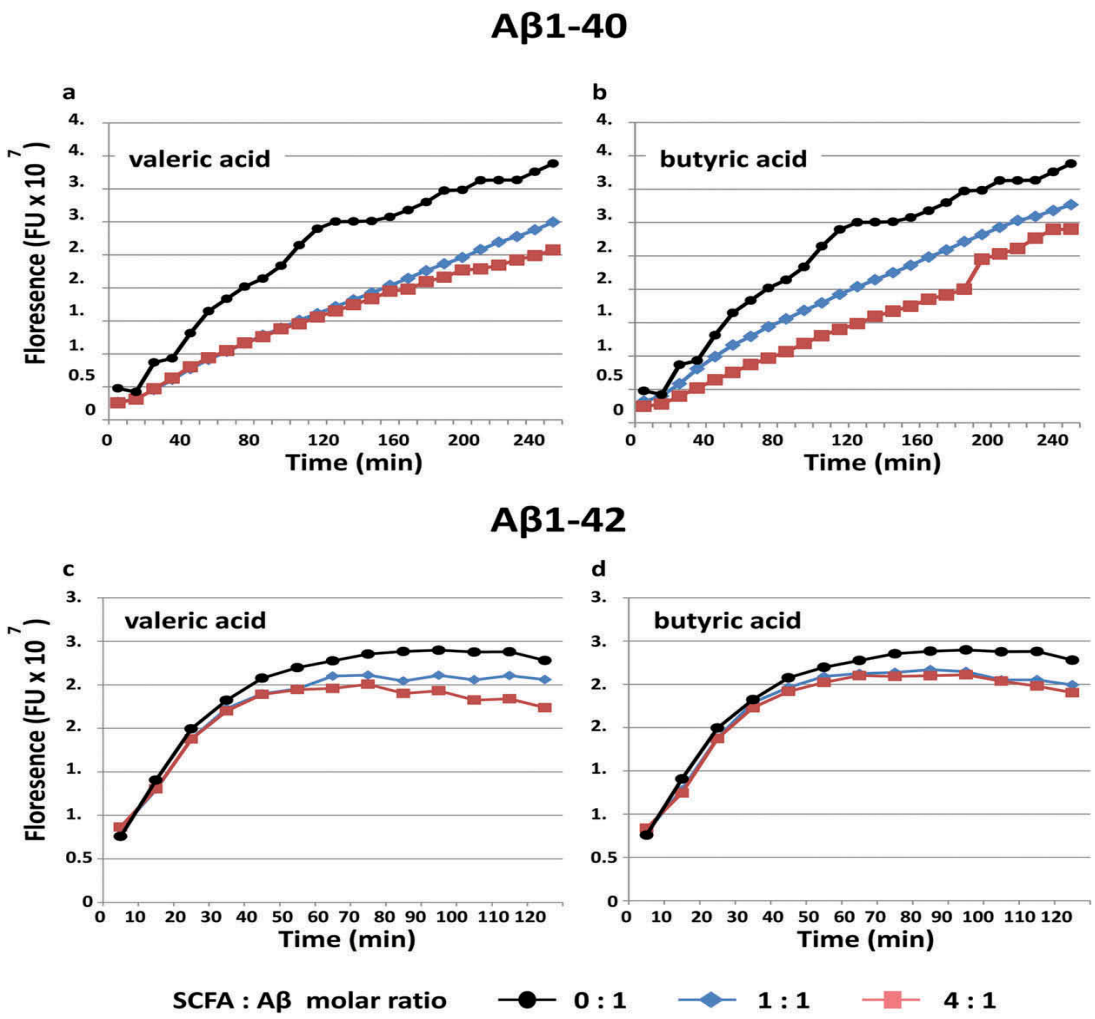
Risultati

- Gli acidi valerico, butirrico e propionico (in ordine di efficacia) sono in grado di inibire l'iniziale interazione proteina-proteina di Aβ

- L'acido valerico (in rapporto molare di 4:1 rispetto a Aβ) inibisce potentemente l'interazione tra i peptidi Aβ1-40 e Aβ1-42

- Gli acidi butirrico e propionico interferiscono invece con la formazione di trimeri Aβ1-40, ma non con la formazione di dimeri Aβ1-40.

Inibizione delle fibrille di Aβ



Metodo: *ThT Fluorescence assay*, ovvero assessment indiretto del contenuto di fibrille di Aβ

<u>Legenda:</u>

FU = fluorescence unit

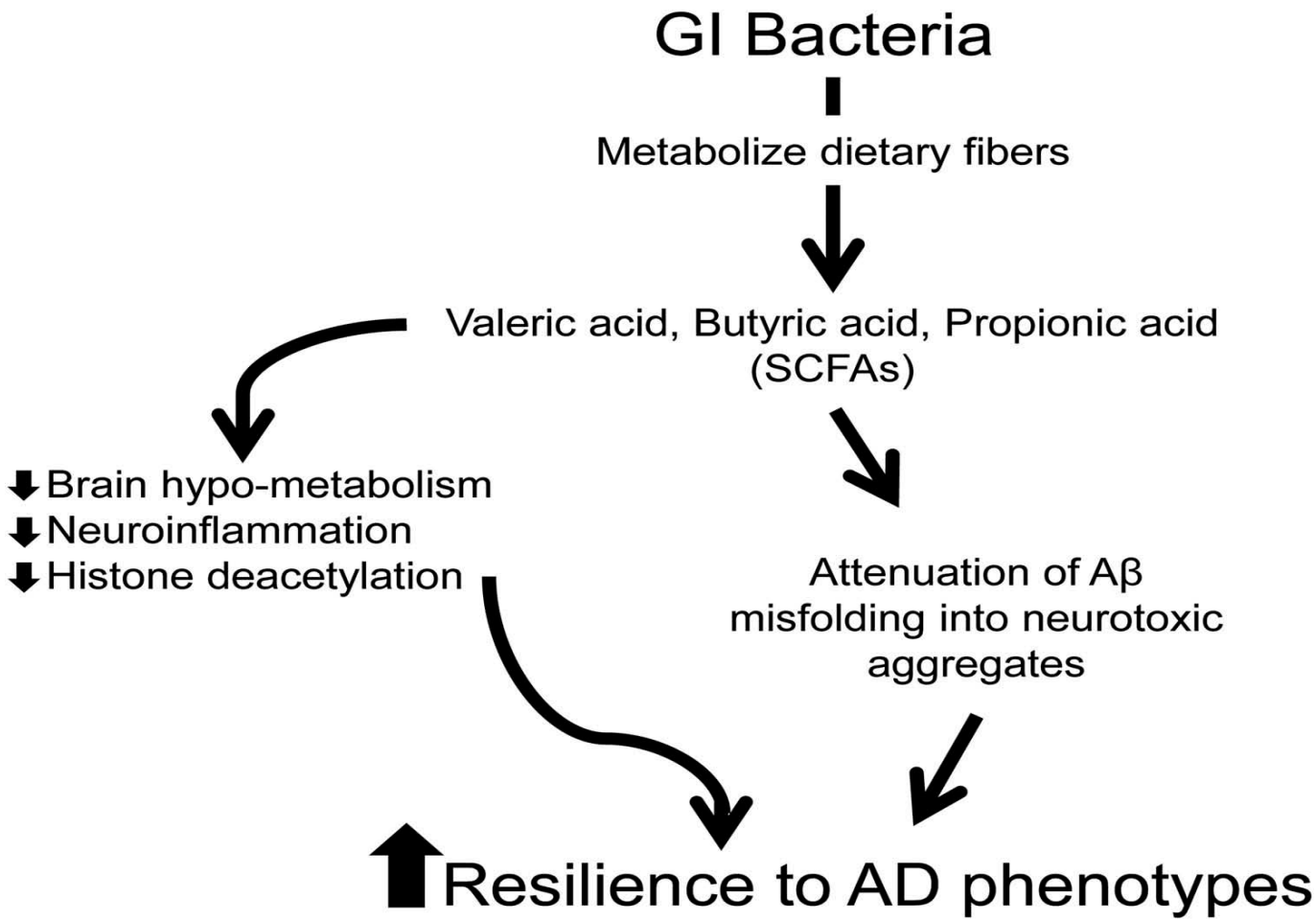
Ho L, et al. Exp Rev Neurotherap 2018;18(1):83-90

Conclusioni

- I risultati dell'esperimento confermano l'ipotesi secondo cui il microbiota intestinale può avere ruolo protettivo nei confronti di AD, in parte mediante interferenza con il processo di aggregazione di Aβ

- È possibile che anche la componente minoritaria di SCFA introdotta con la dieta possa contribuire ad inibire l'aggregazione di Aβ indipendentemente dal microbiota

SCFA possono modulare AD



Ho L, et al. https://doi.org/10.1080/14737175.2018.1400909

Una visione più ampia

- Il microbiota intestinale può contribuire a promuovere la resilienza contro la malattia di Alzheimer attraverso molteplici meccanismi

- l'acido valerico - o l'assunzione di fibre dal cui metabolismo può essere ottenuto - potrebbe divenire componente utile nella preparazione di probiotici atti a promuovere la resilienza nei confronti delle patologie neurodegenerative, tra cui anche AD

Ringraziamenti

Center for Molecular Integrative Neuroresilience

New York, NY

Prof. G.M. Pasinetti

Dr. Lap Ho

Dr. Jun Wang

Mrs. S. Gursahai

Icahn School of Medicine at Mount Sinai

Showa University School of Medicine

Prof. K. Ono

Dr. M. Tsuji

Università degli Studi di Milano-Bicocca

Monza (MB)

Prof. G. Annoni

Prof. G. Bellelli

1998-2018 20 UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO BICOCCA VENTESIMO ANNIVERSARIO

Grazie per l'attenzione

paolo.mazzola@unimib.it