

MICROBIOTA POLMONARE E PATOLOGIA RESPIRATORIA ACUTA: COVID-19, METABOLOMICA E MICROBIOMICA

Vassilios Fanos^{*◦}, Maria Cristina Pintus^{*}, Roberta Pintus^{◦^}, Maria Antonietta Marcialis^{*}

* *Terapia Intensiva Neonatale AOU Cagliari*

◦ *Università degli Studi di Cagliari*

^ *Corresponding Author*

INTRODUZIONE

I polmoni sani non sono sterili (Barcik2020). Fino al 2010 si pensava che fosse un organo sterile (come ad esempio la placenta) e che fosse abitato da microrganismi (batteri, virus, funghi) al suo interno, solo in condizioni patologiche quali fibrosi cistica, enfisema, bronchiectasie, o polmonite.

Nell'ultimo decennio è stato dimostrato che il polmone normale ha un suo specifico microbiota. È molto più piccolo in termini numerici, rispetto al microbiota intestinale, ma è un microbiota unico che può influenzare la salute e le malattie. Con un numero stimato di 10–100 batteri per 1.000 cellule umane, il tratto respiratorio inferiore è una delle superfici meno popolate da batteri dell'intero corpo umano (EnaudR2020).

Se ci pensiamo, ad ogni singolo respiro il polmone è esposto a ogni sorta di particolati, contaminanti, batteri patogeni e non patogeni (UbagsNDJ2017).

Similmente all'intestino, i due phyla predominanti rilevati nelle vie aeree sono Firmicutes e Bacteroidetes, mentre Actinobacteria, Proteobacteria e i Fusobatteri sono costituenti minori del microbiota locale (BuddenK2016; MukherjeeS2018; EnaudR2020). Veillonella, Prevotella sono costituenti minori della flora locale, batteri anaerobi che originano dalla flora microbica dell'orofaringe, generalmente non patogena. Va però detto che Veillonella e Prevotella si associano a presenza di cellule infiammatorie nel polmone. È possibile che questo comportamento possa avere un significato compensatorio. Anche i batteri Neisseria e Acinetobacter, e alcuni tipi di Streptococcus spp. sono normalmente presenti nel polmone. Al contrario, Pseudomonas spp. si trova raramente in un polmone normale.

I batteri di differenti sedi corporee dialogano tra loro con un sistema a doppia comunicazione. C'è un vitale dialogo incrociato tra le mucose dei tessuti del nostro corpo, sia in condizioni di normalità, sia in condizioni di patologia, come dimostrato ad esempio dalla presenza di complicazioni intestinali durante le malattie respiratorie e viceversa (CabreraPeres2017). Inoltre, l'infiammazione nell'intestino può influenzare l'infiammazione delle vie aeree nell'asma e nella fibrosi cistica.

Peraltro, i polmoni non presentano la stessa popolazione microbica in tutti i vari distretti (bronchi, bronchioli, alveoli) (Pulvirenti2019). Lo spazio alveolare non è mai sterile. Anche se in piccola quantità, i batteri presenti negli alveoli contribuiscono al mantenimento dell'equilibrio del sistema immune del polmone. Il microbiota

polmonare varia con l'età. Già al momento della nascita sono state rilevate delle colonie microbiche nel cavo orale (stafilococchi, streptococchi e moraxella). Nel tratto respiratorio del neonato pretermine intubati si trovano Proteobatteri.

DA COSA DIPENDE IL MICROBIOTA DEL POLMONE?

La composizione del microbiota polmonare dipende da molti fattori tra i quali particolarmente importanti sono: a) la cosiddetta "immigrazione microbica" da microaspirazione e da inalazione di microrganismi. L'osservazione che il microbiota polmonare è molto simile a quello dell'orofaringe conferma il meccanismo della microaspirazione.); b) eliminazione microbica (tosse, clearance mucociliare, immunità innata e adattiva); c) condizioni locali (nutrizione, temperatura, ossigenazione locale, quantità e qualità delle cellule antiinfiammatorie). Il microbiota polmonare è importante non solo nelle forme acute ma anche in quelle croniche (Madan, et al.).

Ad esempio, nell'adulto, sappiamo che nella broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), nell'enfisema polmonare e nella bronchite cronica, i batteri hanno un ruolo sostanziale nel perpetuare l'infiammazione che porta a frequenti esacerbazioni polmonari. Abbiamo 2 modi per utilizzare il microbiota in modo efficace. Il primo, e il più semplice, è stratificare i pazienti, in modo da poter prevedere meglio come risponderanno a una particolare terapia. Per fare ciò, possiamo costruire delle banche dati che collegano il profilo del loro microbiota, il profilo del loro sistema immunitario e la loro storia medica e utilizzare Big Data e l'intelligenza artificiale per fare valutazioni predittive. Il secondo modo è l'intervento terapeutico, cercando di identificare quale microbiota sia esacerbante per le malattie, e quindi esplorando i modi per manipolarlo e migliorare lo stato di salute.

IL MICROBIOTA DELL'INTESTINO E QUELLO DEL POLMONE VANNO A BRACCETTO: L'ASSE INTESTINO-POLMONE

Uno studio sulla fibrosi cistica fornisce prove che il microbiota dell'intestino e quello del polmone si sviluppano contemporaneamente dopo la nascita, ed è evidente che vi sia un dialogo incrociato costante tra questi due scomparti (MarslandBJ2015). Un certo numero di batteri appare nell'intestino prima di essere rilevato nel tratto respiratorio, il che indica un contributo di micro-aspirazione di microbi intestinali nello sviluppo di microbiota delle vie aeree.

I batteri produttori di acido lattico e, in particolare Lactobacilli aumentano l'attività delle cellule natural killer, incrementano la risposta immune antivirale, riducono la produzione di citokine proinfiammatorie e determinano una up-regolazione della citotossicità cellulo mediata dopo un'infezione respiratoria.

È stato anche dimostrato che fattori come la dieta possono avere un impatto non solo sulla composizione del microbiota intestinale, ma anche del microbiota polmonare

(WypychTP2017; Trompette2014). Recenti studi sui topi hanno evidenziato che le fibre alimentari e gli acidi grassi a catena corta (SCFA), possono proteggere contro lo sviluppo di allergie e infiammazioni delle vie aeree, modulando la funzione del sistema immunitario. L'assunzione di fibre ha portato nei topi ad un aumento degli SCFA, accompagnata da cambiamenti nel microbiota intestinale e, in misura minore, del microbiota delle vie aeree. Correlazioni simili sono state fatte nell'uomo tra i cambiamenti nel microbiota intestinale dopo assunzione di fibre e una bassa incidenza di asma.

Una parte dei microrganismi del polmone deriva dall'intestino. Prevalgono i Firmicutes e Bacteroidetes, che caratterizzano il microbiota intestinale (MukherjeeS2018). L'asse intestino-polmone poggia fundamentalmente sulla capacità da parte del microbiota intestinale di modulare quello polmonare e la sua attività immunologica. Quest'ultima si estrinseca attraverso diversi elementi: produzione di sostanze quali i liposaccaridi (LPS), produzione di metaboliti batterici quali i SCFAs, migrazione di cellule immunitarie (in particolare cellule T) dall'intestino al polmone attraverso il sangue. Ciò che ormai appare evidente dalla letteratura è che una disbiosi microbica del polmone può contribuire a far innescare e a far progredire le malattie respiratorie e questa può essere preceduta da una disbiosi intestinale (MarslandBJ2015). Il microbioma intestinale non riguarda però solo l'intestino, ma ha anche effetti molto lontani che alterano le risposte immunitarie in altri organi, come cuore, fegato e reni (MarslandBJ2015). È molto verosimile che lo stesso si verifichi per il polmone. Nell'immediato futuro si potrebbe monitorizzare individualmente il microbiota alla nascita e nelle diverse età della vita e pensarlo come un GPS microbico (sistema di posizionamento globale) per riconoscere i fenotipi e predire patologie e risposte al trattamento.

IL MICROBIOTA POLMONARE IN EPOCA PERINATALE E PEDIATRICA

Il microbiota polmonare fetale e placentare

I polmoni fetali umani ospitano "una firma" del microbiota (AlAlamD2020): dopo appena 11 settimane dopo il concepimento, i polmoni mostrano già una firma batterica del microbiota, il che suggerisce che i batteri possono colonizzare i polmoni ben prima della nascita. Questa scoperta per la prima volta getta luce sul mistero di come i microbi o i prodotti microbici raggiungono quegli organi prima della nascita e quale ruolo svolgono nel normale sviluppo del polmone e del sistema immunitario. La maturazione del microbiota sembra avanzare con l'età gestazionale. Infine, nello studio in questione, veniva rilevato anche un microbiota placentare nel tessuto fetale umano e questa firma del microbiota mostrava una certa sovrapposizione tassonomica con il corrispondente microbiota polmonare fetale umano. Quest'ultimo potrebbe servire per "innescare" lo sviluppo del sistema immunitario innato e aiutare a stabilire una normale relazione tra ospite e batteri.

Il microbiota polmonare nel neonato

Il microbiota polmonare cambia durante le prime settimane di vita postnatale. In particolare, ci sono diversi fattori legati alla nascita pretermine che possono alterarne lo sviluppo. La corioamnionite o un'infezione transplacentare possono attivare uno stato infiammatorio che agisce come fattore scatenante per lo sviluppo della broncodisplasia polmonare (BPD), una grave patologia polmonare cronica del neonato gravemente prematuro e di basso peso neonatale. L'argomento è stato ampiamente studiato (Novitsky2015; Pammi2018; Wagner2017; Imamura2017; Piersigilli2016). Inoltre, l'uso di antibiotici, sia in utero che dopo la nascita, è stato associato ad un aumento dell'incidenza di BPD. Altri fattori sono l'assistenza ventilatoria, la nutrizione enterale, l'insorgenza di sepsi. La disbiosi intestinale è stata considerata tra le cause dell'enterocolite necrotizzante e se questo processo di disbiosi si verifica anche a livello polmonare, potrebbe innescare il processo infiammatorio alla base della BPD. Ciò potrebbe essere spiegato dalla presenza di batteri commensali nei polmoni che sono coinvolti nella formazione del sistema immunitario; se tali batteri commensali vengono eliminati o danneggiati dai fattori sopra riportati, può verificarsi una risposta infiammatoria anormale responsabile della patogenesi della BPD. Alcuni autori hanno dimostrato che esiste un turnover più rapido del microbiota con l'età nei bambini con BPD più grave. In particolare, la concentrazione di *Staphylococcus* spp. è inferiore nei primi giorni di vita, mentre vi è una maggiore concentrazione di *Ureaplasma* spp. Ciò suggerisce un possibile ruolo del microbiota nella delineazione della gravità della BPD. È stata rilevata una maggiore presenza di *Corynebacterium* spp. nei neonati con BPD grave, specialmente in quelli trattati con ventilazione invasiva più lunga. Inoltre, i polmoni dei neonati pretermine sono già colonizzati alla nascita con *Acinetobacter* spp. e il numero di *Lactobacilli* nel microbiota polmonare dei pretermine che hanno sviluppato BPD è significativamente inferiore rispetto ai neonati che non sviluppavano BPD: questa bassa concentrazione è evidente nei neonati pretermine la cui madre soffriva di corioamnionite (FanosDietaMicrobiota2015).

Il microbiota nel lattante

La bronchiolite, un'infezione virale acuta delle vie respiratorie inferiori, è un importante problema di salute pubblica nel mondo. Sebbene circa il 40% dei bambini sviluppi bronchiolite clinica nei primi 2 anni della vita, la sua gravità varia fortemente da forme lievi a forme fatali. Gli studi hanno riportato diversi fattori di rischio clinici per gravità più elevata (ad es. prematurità, comorbidità); tuttavia, non è chiaro quali bambini svilupperanno una malattia grave, con ricovero in terapia intensiva. Prove emergenti indicano che la patobiologia della bronchiolite comporta una complessa interazione tra virus, microbiota delle vie aeree e immunità dell'ospite (ZhangX2019). Ad esempio, il predominio dello *Streptococco* o dell'*Haemophilus* nelle vie aeree superiori è stato associato a una maggiore gravità della malattia mentre la *Moraxella* è stata associata a una riduzione della gravità della malattia nei bambini ricoverati in

ospedale. Va ricordato che anche le infezioni ricorrenti del tratto respiratorio si associano ad una disbiosi intestinale: in particolare è presente una riduzione dei batteri che producono butirrato, le specie di *Fecalibacterium* e *Eubacterium* (LiL2019).

IL MICROBIOTA POLMONARE IN ETÀ ADULTA

Microbiota e malattie acute del polmone nell'animale da esperimento

Se consideriamo il rapporto tra la sindrome influenzale e l'impatto del microbiota dell'intestino e dei polmoni le nostre conoscenze sono ancora frammentarie; dati sull'uomo non sono ancora disponibili. Tuttavia, il trattamento antibiotico determina una riduzione significativa delle risposte immunitarie contro il virus dell'influenza nei topi (MarslandBJ2015). Al contrario, topi infetti da virus influenzale alimentati con diete ad elevato contenuto di grassi mostrano tassi di sopravvivenza aumentati rispetto a controlli infetti grazie a un'aumentata generazione di monociti Ly6c-patrolling. Questi monociti aumentano i numeri di macrofagi che hanno una capacità limitata di produrre CXCL1 localmente, riducendo il reclutamento di neutrofili nelle vie respiratorie e quindi il danno ai tessuti. Al di là di questi dati, l'elemento più importante che emerge da alcuni studi sperimentali è il seguente: la riduzione della diversità batterica nel microbiota intestinale si associa ad un grande aumento della mortalità da infezioni virali (ZhangD2020).

Uno studio ha valutato sistematicamente gli eventi dall'infezione polmonare virale da Virus Respiratorio Sinciziale (VRS) ai cambiamenti nel microbiota intestinale. Si è visto che la risposta immunitaria cellulare all'infezione virale polmonare induce inappetenza, che a sua volta altera il microbiota intestinale e il metaboloma. L'infezione virale ha anche portato a cambiamenti nel metaboloma intestinale fecale, con un significativo cambiamento nel metabolismo lipidico. Gli sfingolipidi, gli acidi grassi polinsaturi (PUFA) e il valerato, acidi grassi a catena corta (SCFA), sono stati tutti abbondantemente aumentati nel metaboloma fecale dopo l'infezione da RSV. Sorprendentemente, c'è stato un aumento dei lipidi associato alla risoluzione della malattia. Resta da stabilire se l'impatto dell'inappetenza indotta dall'infezione sul microbiota intestinale facciano parte di una risposta antinfiammatoria protettiva durante le infezioni virali respiratorie (GrovesTH2020).

Sia il microbiota polmonare che quello intestinale sono essenziali contro le polmoniti batteriche.

Il microbiota polmonare è in grado di proteggere contro infezioni respiratorie con *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae* innescando la produzione polmonare del fattore stimolante le colonie di granulociti-macrofagi (GM-CSF) tramite stimolazione di IL-17 e Nod2 (MukherjeeS2018). Il anche il microbiota intestinale svolge un ruolo cruciale nella risposta al polmone infezioni batteriche polmonare. Gli studi sui topi germ-free hanno mostrato un aumento della morbilità e mortalità

durante o infezione polmonare acuta da *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* (MukherjeeS2018).

I batteri filamentosi segmentati (BuddenK2016), batteri commensali dell'ileo di molti animali, compreso l'uomo, sembrano essere un importante componente del microbiota intestinale per la difesa polmonare contro le infezioni batteriche grazie alla loro capacità di indurre la produzione della citochina Th17, e l'IL-22, e per aumentare la conta dei neutrofili nei polmoni durante polmonite *Staphylococcus aureus*.

Microbiota e malattie acute del polmone

La composizione del microbiota polmonare è stata oggetto di ampie indagini nelle patologie polmonari croniche, sia infettive sia non infettive (DumasA2018; Wypych2020).

Nelle malattie acute del polmone come la sepsi, i traumi, e la Sindrome da Distress Respiratorio Acuto (ARDS, dalle iniziali inglesi), il microbiota polmonare diventa ricco di batteri intestinali, quali *Bacteroidetes* ed *Enterobacteriaceae*. Questo fenomeno è chiamato anche "more gut in the lung" ("più intestino nel polmone") (MukherjeeS2018). In situazioni acute, l'intestino diventa iperpermeabile (leaky gut) e i batteri possono traslocare attraverso la parete del colon e raggiungere il polmone influenzando l'infiammazione, l'infezione e il danno polmonare acuto. La maggiore permeabilità intestinale si associa anche a una maggiore iperpermeabilità alveolo-capillare (Dickson, et al.). Questa aumentata permeabilità vascolare, associata alla presenza di muco, fa sì che i "patogeni" gram-negativi, comunemente presenti nel polmone, ne traggano giovamento innescando un circolo vizioso proinfiammatorio.

L'ipotesi della linfa intestinale (OtaniS2019) prevede che mediatori nocivi originati dal lume intestinale viaggiano attraverso la linfa mesenterica fino al polmone dove causano danni ai tessuti. Numerose ricerche supportano questa ipotesi. La legatura del dotto linfatico mesenterico riduce le lesioni polmonari e attenua l'attivazione dei neutrofili nei modelli di roditori con malattia critica migliorando la sopravvivenza. Inoltre, l'iniezione di linfa mesenterica da trauma-emorragia induce iperpermeabilità polmonare e lesioni polmonari (OtaniS2019). Complementare a questi dati è il comportamento dell'asse intestino-polmone nelle malattie associate a grande criticità. In una sepsi murina le comunità polmonari sono dominate da batteri associati all'intestino e l'analisi ecologica ha rivelato che l'intestino è la probabile fonte di batteri polmonari. Ciò è coerente con l'abbondanza di batteri specifici dell'intestino nei pazienti in terapia intensiva con sindrome da distress respiratorio acuto.

La disbiosi polmonare è associata ad un incremento dei marker dell'infiammazione, quali le interleuchine 6 e 8 (IL-6 e IL-8) (Chellappan, et al.). Nei soggetti adulti vi è una crescita di un'unica specie prevalente (*Escherichia Coli*, *Enterococcus*, *Clostridium difficile*, *Pseudomonas*, *Salmonella*) dovuta a molteplici fattori quali ischemia intestinale, interruzione dell'alimentazione, farmaci vasoattivi, profilassi delle ulcere da stress, terapia antibiotica durante il ricovero in terapia intensiva, che abbassano

notevolmente le difese polmonari. Nell'animale da esperimento si è visto che batteri come *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae* si associano a una riduzione delle IL-17 e Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) che sono essenziali nella difesa del polmone. Quando il paziente guarisce, se sopravvive, può rimanere una disbiosi intestinale e/o una disbiosi polmonare che favoriscono la recidiva, fino a giungere al "collasso del microbiota". Quest'ultima si associa ad un esaurimento immune che favorisce un'insufficienza multiorgano associata ad elevata mortalità, anche del 40% (Mukherjee2018).

Microbiota polmonare e ricovero in terapia intensiva

Tra i pazienti ricoverati in terapia intensiva l'infezione nosocomiale più comune è la polmonite associata alla ventilazione (VAP), che si associa ad un'alterazione del microbiota polmonare delle vie respiratorie inferiori, per l'assenza di batteri anaerobi o per la crescita abnorme di particolari specie batteriche, derivanti dall'intestino. Anche dati molto recenti e interessanti suggeriscono strette correlazioni tra il microbiota polmonare e il ricovero in terapia intensiva (Dickson, et al.). In particolare i cambiamenti nel microbiota polmonare possono aiutare a prevedere in che misura i pazienti in condizioni critiche risponderanno alle cure. In uno studio molto recente su 91 soggetti adulti, solo i pazienti che avevano Enterobacteriaceae nell'intestino erano ricoverati in Terapia Intensiva; inoltre, i pazienti che nei polmoni avevano un numero elevato di batteri e una prevalenza di batteri tipici ("buoni") della flora polmonare, il giorno dopo il ricovero in terapia intensiva per sindrome da distress respiratorio, andavano clinicamente meglio (meno giorni di ventilazione). Al contrario, la presenza nel polmone di due gruppi di batteri normalmente presenti nell'intestino – Lachnospiraceae e Enterobacteriaceae spp – era comune nel microbiota polmonare dei pazienti con esiti peggiori (Dickson, et al.). In conclusione, si può affermare che la tipologia dei batteri rilevati sia anche predittiva degli esiti. Dobbiamo capire se sia possibile modificare il microbiota polmonare, sia per prevenire sia per trattare le lesioni polmonari.

Normalmente in casi acuti, non si imposta una copertura antibiotica che copra anche i batteri intestinali e non è scontato che i clinici prendano in considerazione queste infezioni a livello del polmone. I medici possono avere la falsa sensazione di aver dato una copertura antibiotica estesa al paziente, mentre i batteri responsabili che, come abbiamo detto, non sono facilmente coltivabili, non rispondono alla terapia. L'individuazione dei batteri potrebbe essere fatta con il liquido di lavaggio broncoalveolare (BAL), ma l'esecuzione del BAL, oltre a essere disagiata, ha come effetto collaterale la superinfezione batterica del polmone.

Può la gravità del COVID-19 essere influenzata dai batteri?

In termini generali le donne in gravidanza sono considerate una popolazione a rischio per le infezioni respiratorie virali. Sappiamo quanto, ad esempio, sia pericolosa l'influenza nelle donne gravide al terzo trimestre di gravidanza per le possibili

conseguenze sia sulla madre, sia sul feto, come l'influenza stagionale e, recentemente, le infezioni da COVID-19 (Paraluppi2020). Per l'influenza stagionale è raccomandato il vaccino in gravidanza all'inizio della stagione influenzale.

Si sta indagando se la differente incidenza in base all'età e il diverso decorso fra adulto e bambino per il COVID-19 potesse essere dovuta a una differente concentrazione e/o attivazione di un particolare (ACE2) a livello polmonare e intestinale (YanR2020). Contrariamente a quanto supposto in studi preclinici, in uno studio si è analizzato il lavaggio broncoalveolare in neonati, bambini e adulti con sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS, dalle iniziali in lingua inglese). Gli autori hanno trovato differenze per quanto riguarda i biomarkers legati alla risposta neutrofilica. Per quanto riguarda invece ACE e ACE2, la loro attività e concentrazione a livello polmonare non sembra cambiare con l'età. È possibile invece che ACE2 sia più o meno attivato a livello gastroenterico e che la sua presenza e attività sia influenzata dal microbiota.

Uno studio di Hashimoto et al. indica che l'espressione di ACE2 è prevalentemente localizzata sulla superficie luminale delle cellule epiteliali intestinali e meno espresso a livello delle cripte (Hashimoto, et al.). Inoltre hanno ipotizzato che l'azione di ACE2 sia influenzata dal microbiota intestinale quindi si potrebbe ipotizzare una stretta relazione fra COVID-19 e il microbiota. Tuttavia le connessioni fra il polmone e il tratto gastroenterico non sono completamente chiarite, ma è ben risaputo che le infezioni del tratto respiratorio possono complicarsi con disfunzioni gastro-intestinali e questo fenomeno si osserva anche nei pazienti con infezione da COVID-19. Molti studi hanno dimostrato che agendo sul microbiota intestinale si possano ridurre gli episodi di enterite e patologie respiratorie ad esse associate, e ridurre gli effetti avversi degli antibiotici evitando la replicazione del virus a livello respiratorio (ChenCJ2017). Ad oggi non ci sono evidenze che probiotici possano aver un affetto terapeutico, ma si può supporre che potrebbero favorire la risoluzione dei sintomi gastroenterici e respiratori.

Al riguardo, finora sono stati condotti studi solo su animali. In uno di questi (MeazziS2019), condotto su gatti, si è andati a studiare la composizione del microbiota fecale in gatti sani e in gatti infettati da coronavirus felino (FCoV), con e senza peritonite. Sebbene non ci fossero differenze statisticamente significative, alcune considerazioni si possono trarre: i più rappresentati erano Firmicutes seguiti dai Bacteroidetes e Actinobacteria. Nel gruppo di gatti positivi al FCoV, i Firmicutes e i Bacteroidetes erano rispettivamente sopra e sotto rappresentati rispetto agli altri gruppi. Fra i 5 gatti con peritonite, 3 presentavano un microbioma simile. Quindi qualche differenza risulta già evidenziabile, nonostante il campione sia limitato a 15 gatti, ulteriori studi potrebbero chiarire l'interazione fra coronavirus e microbiota intestinale.

IL FUTURO

Probiotici e malattie polmonari acute

Gli studi che sono stati pubblicati sono stati eseguiti sui topi. Oltre a evidenti differenze di carattere generale tra esseri umani e topi che ben conosciamo, va tenuto presente che condividiamo con il topo solo il 15% del microbiota polmonare. Inoltre gli studi non hanno considerato funghi e virus. Certamente è molto importante approfondire i meccanismi e le conseguenze della disbiosi intestinale (Weiss2017). L'impiego di probiotici (DumasA2018) ha comportato un ripristino del microbiota ottimale sia a livello intestinale, sia a livello polmonare, attraverso azioni composite sul sistema immune e specifiche azioni sui linfociti.

Un'area chiave per il futuro è l'uso dei probiotici nelle malattie polmonari, come già riportato per l'uso di probiotici nelle malattie intestinali (ChenCJ2017). Allo stesso modo, sono necessari studi più dettagliati per affrontare il modo in cui i probiotici (a) modulano la comunità del microbiota polmonare residente, (b) persistono e sono localizzati nelle vie aeree, (c) interagiscono con cellule e leucociti residenti e (d) influenzano l'omeostasi dell'immunità del polmone durante e dopo l'infezione con diversi agenti patogeni. Diversi autori ritengono che le discipline "omiche", in particolare la metabolomica, potrà consentire di sciogliere alcuni misteri del microbiota polmonare, con importanti guadagni di salute nella pratica quotidiana.

Il ruolo della metabolomica e della microbiomica

Va sottolineato che il microbiota interagisce con l'ospite attraverso la secrezione di metaboliti che sono indentificati dal sistema immune e forniscono informazioni sullo stato metabolico e sulla quantità e qualità della colonizzazione. Questo continuo crosstalk (dialogo), essenziale per il raggiungimento e il mantenimento dell'equilibrio dell'organismo (Chellappan, et al.), si verifica anche a livello polmonare (DangAT2019). Come avviene questo dialogo? Attraverso i metaboliti (Song, et al.).

I metaboliti, ovvero le sostanze di piccolo peso molecolare presenti in tutti i nostri biofluidi oggetto dello studio della metabolomica, sono il linguaggio segreto tra batteri, cellule e organismo, sono gli SMS biologici con cui questi mondi così lontani e così vicini, così necessari gli uni agli altri, comunicano. Grazie alla metabolomica il linguaggio segreto è stato in buona parte decifrato e questo ci dà notevoli vantaggi dal punto di vista preventivo e terapeutico. I metaboliti sono un linguaggio leggibile contemporaneamente dai batteri e dal nostro corpo (FanosV2015).

Tutto ciò premesso, uno studio metabolomico accurato, condotto attraverso l'analisi metabolomica delle urine e/o del sangue, potrebbe predire il comportamento dei pazienti e orientare dal punto di vista terapeutico, discriminando in anticipo i pazienti "responders" o "not responders" a un certo tipo di trattamento, in particolare all'antibioticoterapia (MussapM2020).

Si stanno conoscendo sempre maggiori informazioni sui rapporti tra microbiota, sistema immunitario, infezioni virali e, in particolare, Coronavirus (Shi2020). Un'osservazione comune che può tornare molto utile è che i sintomi gastrointestinali sembrano precedere quelli respiratori (Trotteinf2020).

La diversità del microbiota intestinale è diminuita in età avanzata e il Covid-19 è stato principalmente fatale nei pazienti anziani, il che indica ancora una volta il ruolo che il microbiota intestinale può svolgere in questa malattia. Migliorare il profilo del microbiota intestinale mediante un'alimentazione personalizzata e un'integrazione nota per migliorare l'immunità può essere uno dei modi profilattici con cui l'impatto di questa malattia può essere ridotto al minimo negli anziani, nei pazienti immunocompromessi e, più in generale, nei pazienti a rischio (DharD2020).

Al momento sono stati condotti pochissimi studi metabolomici sui pazienti adulti con COVID-19 (Shen, et al.; Zhou, et al.).

Song et al (Song J-W, 2020) hanno studiato il profilo plasmatico metabolomico e lipidomico di soggetti sani e con COVID-19, che è risultato nettamente distinto. È risultato importante anche il ruolo degli esosomi (GM3-arricchiti).

Thomas T et al. (Thomas T, 2020) hanno eseguito analisi metabolomiche targeted e untargeted di soggetti ammalati di COVID-19 e hanno identificato un metabolismo alterato del triptofano nella via della chinurenina, che regola l'infiammazione e l'immunità. In effetti, questi cambiamenti nel metabolismo del triptofano erano correlati ai livelli di interleuchina-6 (IL-6). È stata osservata anche una diffusa disregolazione del metabolismo dell'azoto nei pazienti infetti, con livelli alterati della maggior parte degli amminoacidi, insieme ad un aumento dei marcatori di stress ossidativo, proteolisi e disfunzione renale. Sono stati anche osservati livelli circolanti aumentati di glucosio e acidi grassi liberi.

Infine Migaud M et al. (MigaudM2020) ha descritto i metaboliti predittivi di mortalità nei soggetti adulti, cercando di delineare anche la risposta ai farmaci.

CONCLUSIONI

Alla luce di quanto detto sopra è opportuna una maggiore attenzione agli aspetti microbiomici del polmone in condizioni di patologia respiratoria acuta. L'approfondimento di questi aspetti potrebbe potenzialmente predire l'esito clinico di grande interesse e utilità nell'attuale gestione clinica dei pazienti con COVID-19. Un suggerimento pratico potrebbe essere quello di prestare maggiore attenzione ai pazienti con una presentazione iniziale con sintomi gastrointestinali, specialmente quelli provenienti da aree epidemiche. I pazienti potrebbero avere una permeabilità intestinale con traslocazione batterica dall'intestino al polmone. Nei pazienti con polmonite, il microbiota polmonare potrebbe cambiare rapidamente e significativamente con la presenza di batteri intestinali nel polmone. I batteri intestinali possono influenzare in modo significativo la necessità di ventilazione e la

sopravvivenza. Questi concetti devono essere presi in considerazione quando si gestisce un paziente con ARDS per un'adeguata copertura antibiotica. Sono stati proposti diversi suggerimenti per il trattamento con COVID-19. Queste opzioni potrebbero includere anche i probiotici, in particolare i bifidobatteri e i lattobacilli, ovvero *L. gasseri*. Nell'immediato prossimo futuro, la metabolomica potrebbe essere applicata in maniera estensiva allo studio del COVID-19, decifrando i linguaggi segreti tra virus, batteri e organismo.

BIBLIOGRAFIA

- Al Alam D, Danopoulos S, Grubbs B, Ali NABM, MacAogain M, Chotirmall SH, Warburton D, Gaggar A, Ambalavanan N, Lal CV. Human Fetal Lungs Harbor a Microbiome Signature. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020 Jan 3.
- Barcik W, Boutin RCT, Sokolowska M, Finlay BB. The Role of Lung and Gut Microbiota in the Pathology of Asthma. *Immunity*. 2020 Feb 18;52(2):241-255.
- Budden KF, Gellatly SL, Wood DL, Cooper MA, Morrison M, Hugenholtz P, Hansbro PM. Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis. *Nat Rev Microbiol*. 2017 Jan;15(1):55-63. doi: 10.1038/nrmicro.2016.142. Epub 2016 Oct 3.
- Cabrera-Perez J, Badovinac VP, Griffith TS. Enteric immunity, the gut microbiome, and sepsis: Rethinking the germ theory of disease. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2017 Jan;242(2):127-139.
- Chellappan, DK, et al. Interactions between microbiome and lungs: Paving new paths for microbiome based bio-engineered drug delivery systems in chronic respiratory diseases. *Chem Biol Interact*. 2019 Sep 1;310:108732.
- Chen CJ, Wu GH, Kuo RL, Shih SR. Role of the intestinal microbiota in the immunomodulation of influenza virus infection. *Microbes Infect*. 2017 Dec;19(12):570-579.
- Dang AT, Marsland BJ. Microbes, metabolites, and the gut-lung axis. *Mucosal Immunol*. 2019 Jul;12(4):843-850.
- Dhar D, Mohanty A. Gut microbiota and Covid-19- possible link and implications. *Virus Res*. 2020 Aug;285:198018.
- Dickson, RP, et al. Biomarker Analysis in Septic ICU Patients (BASIC) Consortium. Lung Microbiota Predict Clinical Outcomes in Critically Ill Patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020 Mar 1;201(5):555-563.
- Dumas A, Bernard L, Poquet Y, Lugo-Villarino G, Neyrolles O. The role of the lung microbiota and the gut-lung axis in respiratory infectious diseases. *Cell Microbiol*. 2018 Dec;20(12):e12966.
- Enaud R, Prevel R, Ciarlo E, Beaufils F, Wieërs G, Guery B, Delhaes L. The Gut-Lung Axis in Health and Respiratory Diseases: A Place for Inter-Organ and Inter-Kingdom Crosstalks. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 Feb 19;10:9.
- Fanos V, *Metabolomica e microbiomica. La medicina personalizzata dal feto all'adulto*. Quartu Sant'Elena (CA): Hygeia Press, 2015.
- Fanos V. *Dieta e microbiota*. Quartu Sant'Elena (CA): Hygeia Press, 2015.
- Groves HT, Higham SL, Moffatt MF, Cox MJ, Tregoning JS. Respiratory Viral Infection Alters the Gut Microbiota by Inducing Inappetence. *mBio*. 2020 Feb 18;11(1).
- Hashimoto, T, et al. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. *Nature*. 2012 Jul 25;487(7408):477-81. doi: 10.1038/nature11228.
- Imamura T, Sato M, Go H, Ogasawara K, Kanai Y, Maeda H, et al. The microbiome of the lower respiratory tract in premature infants with and without severe bronchopulmonary dysplasia. *Am J Perinatol*. 2017; 34:80-7.
- Li L, Wang F, Liu Y, Gu F. Intestinal microbiota dysbiosis in children with recurrent respiratory tract infections. *Microb Pathog*. 2019 Nov;136:103709.

- Madan, JC, et al. Serial analysis of the gut and respiratory microbiome in cystic fibrosis in infancy: interaction between intestinal and respiratory tracts and impact of nutritional exposures. *MBio* 2012;3:1–10.
- Marsland BJ, Trompette A, Gollwitzer ES. The Gut-Lung Axis in Respiratory Disease. *Ann Am Thorac Soc*. 2015 Nov;12 Suppl 2:S150-6.
- Meazzi S, Stranieri A, Lauzi S, Bonsembiante F, Ferro S, Paltrinieri S, Giordano A. Feline gut microbiota composition in association with feline coronavirus infection: A pilot study. *Res Vet Sci*. 2019; 125: 272-8.
- Migaud M, Gandotra S, Chand HS, Gillespie MN, Thannickal VJ, Langley RJ. Metabolomics to Predict Antiviral Drug Efficacy in COVID-19. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2020;63(3):396-8.
- Mukherjee S, Hanidziar D. More of the Gut in the Lung: How Two Microbiomes Meet in ARDS. *Yale J Biol Med*. 2018 Jun 28;91(2):143-149. eCollection 2018 Jun.
- Mussap M, Loddo C, Fanni C, Fanos V. Metabolomics in pharmacology - a delve into the novel field of pharmacometabolomics. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2020 Feb;13(2):115-134.
- Novitsky A, Tuttle D, Locke RG, Saiman L, Mackley A, Paul DA. Prolonged early antibiotic use and bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight infants. *Am J Perinatol*. (2015) 32:43–8.
- Otani S, Coopersmith CM. Gut integrity in critical illness. *J Intensive Care*. 2019 Mar 20;7:17.
- Pammi M, Lal CV, Wagner BD, Mourani PM, Lohmann P, Luna RA, Airway microbiome and development of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants: a systematic review. *J Pediatr*. (2018) 204:126–33.e2.
- Paraluppi V, Pintus MC, Fanos V, Marcialis MA. COVID-19 in newborns and in children: the state of the art. *J Pediatr Neonat Individual Med*. 2020;9(1):e090138. doi: 10.7363/090138.
- Piersigilli F, Bhandari V. Biomarkers in neonatology: the new “omics” of bronchopulmonary dysplasia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. (2016) 29:1758– 64. doi: 10.3109/14767058.2015.1061495.
- Pulvirenti G, Parisi GF, Giallongo A, Papale M, Manti S, Savasta S, Licari A, Marseglia GL, Leonardi S. Lower Airway Microbiota. *Front Pediatr*. 2019 Sep 27;7:393 *Res Vet Sci*. 2019 Aug;125:272-2.
- Shen, B, et al. Xiang N, Cai X, Gao H, Li L, Li S, Xiao Q, Lu T, Zhu Y, Liu H, Chen H, Guo T, Proteomic and Metabolomic Characterization of COVID-19 Patient Sera. *Cell*. 2020 Jul 9;182(1):59-72.e15.
- Shi Y, Wang Y, Shao C, Huang J, Gan J, Huang X, Bucci E, Piacentini M, Ippolito G, Melino G. COVID-19 infection: the perspectives on immune responses. *Cell Death Differ*. 2020 Mar 23. doi: 10.1038/s41418-020-0530-3.
- Shi, Y, et al. The Microbiome and Preterm Birth: A Change in Paradigm with Profound Implications for Pathophysiologic Concepts and Novel Therapeutic Strategies. *Biomed Res Int*. 2018 Oct 2;2018.
- Song, JW, et al. Omics-Driven Systems Interrogation of Metabolic Dysregulation in COVID-19 Pathogenesis. *Cell Metab*. 2020;32(2):188-202.e5.
- Thomas, T, et al. COVID-19 infection alters kynurenine and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status. *JCI Insight*. 2020;5(14):140327.
- Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, Sichelstiel AK, Sprenger N, Ngom-Bru C, Blanchard C, Junt T, Nicod LP, Harris NL. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med* 2014;20:159–166.
- Trottein F, Sokol H Potential Causes and Consequences of Gastrointestinal Disorders during a SARS-CoV-2 Infection. *Cell Rep*. 2020 Jul 21;32(3):107915.
- Ubags NDJ, Marsland BJ. Mechanistic insight into the function of the microbiome in lung diseases. *Eur Respir J*. 2017 Sep 11;50(3).
- Wagner BD, Sontag MK, Harris JK, Miller JI, Morrow L, Robertson CE, Mourani PM. Airway microbial community turnover differs by BPD severity in ventilated preterm infants. *PLoS ONE* (2017) 12:e0170120.
- Weiss GA, Hennet T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell Mol Life Sci*. 2017, Aug;74(16):2959-2977.

- Wieërs G, Belkhir L, Enaud R, Leclercq S, Philippart de Foy JM, Dequenne I, de Timary P, Cani PD. How Probiotics Affect the Microbiota. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 Jan 15;9:454.
- Wypych TP, Marsland BJ, Ubags NDJ. The Impact of Diet on Immunity and Respiratory Diseases. *Ann Am Thorac Soc*. 2017 Nov;14(Supplement_5):S339-S347.
- Wypych TP, Wickramasinghe LC, Marsland BJ. The influence of the microbiome on respiratory health. *Nat Immunol*. 2019 Oct;20(10):1279-1290.
- Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 2020 Mar 27;367(6485):1444-1448.
- Zhang D, Li S, Wang N, Tan HY, Zhang Z, Feng Y. The Cross-Talk Between Gut Microbiota and Lungs in Common Lung Diseases. *Front Microbiol*. 2020 Feb 25;11:.
- Zhang L, Liu Y. Potential interventions for novel coronavirus in China: A systematic review. *J Med Virol*. 2020 May;92(5):479-490. doi: 10.1002/jmv.25707. Epub 2020 Mar 3.
- Zhang X, Zhang N, Wang X, Sun L, Chen N, Zhao S, He Q. Airway microbiome, host immune response and recurrent wheezing in infants with severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Pediatr Allergy Immunol*. 2019.
- Zhou, Y, et al. A Network Medicine Approach to Investigation and Population-based Validation of Disease Manifestations and Drug Repurposing for COVID-19. *ChemRxiv*. 2020 Jul 2. doi: 10.26434/chemrxiv.12579137. Preprint.

Questo capitolo è tratto dall'articolo: Fanos V, Pintus MC, Pintus R, Marcialis MA. Lung microbiota in the acute respiratory disease: from coronavirus to metabolomics. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine (JPnIM)*, 2020, 9(1), e090139, rivisto alla luce dei nuovi studi di metabolomica e microbiomica usciti di recente. Per gentile concessione dell'Editore Hygeia Press.